Jacques Centner / Alain L. de Weck

# Atlas de ínmunoalergologia

Traducido del francés por Dra. María José Pascual Miravalles

Hogrefe & Huber Publishers
Seattle · Toronto · Bern · Göttingen

**Library of Congress Cataloging-in-Publication Data**

Centner, Jacques.
[Atlas d'immuno-allergologie. Spanish]
Atlas de inmunoalergología / translation of French original by María José Pascual Miravalles ; Jacques Centner, Alain L. de Weck. – 3rd ed.
p. cm.
Includes index.
ISBN 0-88937-146-8
1. Allergy–Pathophysiology. 2. Immunity–Pathophysiology. 3. Allergy–Atlases. 4. Immunity–Atlases. I. Weck, Alain L. de. II. Title.
[DNLM: 1. Immunity–atlases. 2. Hypersensitivity–immunology–atlases. QW 517 C397a 1995]
QR188.C4613 1995 616.97–dc20 95-9994 CIP

**Canadian Cataloguing in Publication Data**

Centner, Jacques
Atlas de inmunoalergología
3a ed.
Translation of: Atlas d'immuno-allergologie.
Includes index.
ISBN 0-88937-145-8

1. Immunology. 2. Allergy. I. Weck, Alain L. de. II. Title.

QR181.C4418 1995 616.07'9 C95-930846-6

ISBN 0-88937-145-8
Hogrefe & Huber Publishers, Seattle • Toronto • Bern • Göttingen

© 1995 by Hogrefe & Huber Publishers

USA: **P.O. Box 2487,** Kirkland, WA 98083-2487,
**Phone (206) 820-**1500, Fax (206) 823-8324
CANADA: **12 Bruce Park** Avenue, Toronto, Ontario M4P 2S3
**Phone (416) 482-**6339
SWITZERLAND: **Länggass-Strasse** 76, CH-3000 Bern 9
**Phone (031) 300-**4500, Fax (031) 300-4590
GERMANY: **Rohnsweg 25, D-**37085 Göttingen
Phone (0551) 496090, Fax (0551) 4960988

No part of this book may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, microfilming, recording or otherwise, without the written permission from the publisher.

Printed in Germany

# ABREVIATURAS USADAS

| | |
|---|---|
| AA: | ácido araquidónico |
| AAE: | alveolitis alérgica extrínseca |
| AAN: | anticuerpos antinucleares |
| ABPA: | aspergilosis broncopulmonar alérgica |
| Ac: | anticuerpo |
| AcM: | anticuerpos monoclonales |
| ADN: | ácido desoxirribonucleico (DNA en lengua inglesa) |
| Ag: | antígeno |
| AINS: | antiinflamatorios no esteroideos |
| AMP: | adenosín monofosfato |
| BALT: | Bronchus Associated Lymphoid Tissue |
| C': | complemento |
| CEA: | antígeno carcinoembrionario |
| CGDS: | cromoglicato disódico (DSCG en lengua inglesa) |
| C: | complejo inmune |
| CIC: | complejo inmune circulante |
| CLA: | chemiluminescent assay |
| CMH: | complejo mayor de histocompatibilidad |
| ECF: | eosinophil chemotactic factor (factor quimiotáctico de los eosinófilos) |
| EDN: | eosinophil derivated neurotoxin (neurotoxina del eosinófilo) |
| ELISA: | enzyme-linked-immunosorbent-assay (diagnóstico serológico por inmunoenzimas) |
| EPO: | eosinophil peroxidase (peroxidasa del eosinófilo) |
| EPX: | eosinophil protein X (proteina X del eosinófilo) |
| FACS: | fluorescent-activated-cell-sorter (citofluorometría) |
| GALT: | Gut Associated Lymphoid Tissue. |
| GN: | glomerulonefritis |
| GVH: | graft-versus-host reaction (reacción injerto contra huesped) |
| HBNA: | hyperreactividad bronquial no específica o no alérgica. |
| HIV: | Human Immunodeficiency Virus (SIDA), en español VIH |
| HLA: | Human Leucocyte Antigen (complejo mayor de histocompatibilidad) |
| Ig: | inmunoglobulina |
| IL: | interleuquina |
| IFN: | interferón |
| K: | killer (linfocito citotóxico) |
| LT: | leucotrieno |
| LyTc: | linfocito T citotóxico |
| MAF: | macrophage activating factor (factor activador de los macrófagos) |
| MALT: | Mucous Associated Lymphoid Tissue |
| MBP: | major basic protein (proteina básica mayor) |
| MIF: | migration inhibitory factor (factor inhibidor de la migración) |
| NCF: | neutrophil chemotactif factor (factor quimiotáctico de los neutrófilos) |
| NK: | natural killer (célula asesina natural) |
| PAF | platelet activating factor (activador de las plaquetas) |
| PCR: | polymerase chain reaction |
| PEG: | polietilén glicol |
| PHA: | fitohemaglutinina |
| PG: | prostaglandinas |
| PRU: | Pharmacia RAST Unit |
| RAST: | radio-allergosorbent test |
| SALT: | Skin Associated Lymphoid Tissue |
| SIDA: | síndrome de inmunodeficiencia adquirida (AIDS en lengua inglesa) |
| SRS-A: | slow reacting substance of anaphylaxis |
| Tc: | linfocito T citotóxico |
| Th: | linfocito T helper (inductor) |
| TNF: | tumor necrosis factor |
| Ts: | linfocito T supresor |
| TTL: | test de transformación linfoblástica |
| TX: | tromboxano |
| UV: | ultravioleta |
| VIH: | virus de la inmunodeficiencia humana (ver HIV) |

# INDICE


**Abreviaturas** . . . . . ii

**Prólogo** . . . . . 1

**Introducción** . . . . . 1

**1ª Parte: Mecanismos fundamentales en inmunología** . . . . . 3

**1.1. Mecanismos de defensa no específicos: la inmunidad natural** . . . . . 3
**1.2. Antígenos y anticuerpos** . . . . . 5
**1.3. Células del sistema inmune** . . . . . 7
1.3.1. Generalidades . . . . . 7
1.3.2. Descripción breve de las diferentes células del sistema inmune . . . . . 7
1.3.2.1. Neutrófilos polimorfonucleares . . . . . 7
1.3.2.2. Eosinófilos polimorfonucleares . . . . . 9
1.3.2.3. Basófilos polimorfonucleares y masticotos . . . . . 11
1.3.2.4. Monocitos y macrófagos, células de Langerhans . . . . . 13
1.3.2.5. Linfocitos . . . . . 13
1.3.2.6. Plaquetas . . . . . 15
**1.4. Organos linfoides** . . . . . 17
1.4.1. Timo . . . . . 17
1.4.2. Ganglios linfáticos . . . . . 19
1.4.3. Bazo . . . . . 21
1.4.4. Placas de Peyer – Células M – Otras formaciones linfoides . . . . . 23
**1.5. Circulación periférica de los linfocitos a partir de los órganos linfoides** . . . . . 27
**1.6. Transformación y colaboración de los linfocitos en los fenómenos activos de la inmunidad** . . . . . 29
1.6.1. Linfocitos B . . . . . 29
1.6.2. Linfocitos T . . . . . 31
**1.7. El papel de los macrófagos y su equivalente en la sangre: los monocitos – Presentación del antígeno** . 35
**1.8. Mediadores celulares solubles o citoquinas** . . . . . 41
**1.9. Inmunoglobulinas** . . . . . 45
1.9.1. Plasmocitos . . . . . 45
1.9.2. Estructura de las inmunoglobulinas . . . . . 45
1.9.3. Fragmentos Fab-Fç . . . . . 45
1.9.4. Clases de inmunoglobulinas . . . . . 49
1.9.5. Anticuerpos presentes en el nacimiento . . . . . 51
1.9.6. La IgM e IgG en las respuestas primaria y secundaria . . . . . 51
1.9.7. Inmunoglobulina E y su regulación . . . . . 53
**1.10. Anticuerpos monoclonales (AcM), anticuerpos quiméricos y clonaje del genoma** . . . . . 55
1.10.1. Definiciones . . . . . 55
1.10.2. Producción de los anticuerpos monoclonales (AcM) . . . . . 57
1.10.3. Importancia de los anticuerpos monoclonales – Ejemplos de utilización . . . . . 59
1.10.4. Los sueños de los investigadores . . . . . 63
1.10.5. Anticuerpos quiméricos y clonaje del genoma . . . . . 67
**1.11. Complemento** . . . . . 71
**1.12. Los cuatro tipos fundamentales de reacciones immunoalérgicas** . . . . . 75
1.12.1. Generalidades . . . . . 75
1.12.2. Reacción de hiypersensibilidad tipo I (según Gell y Coombs) o reacción anafiláctica . . . . . 77
1.12.2.1. Los mediadores de la hipersensibilidad inmediata (tipo I) . . . . . 79
1.12.3. Reacción de hipersensibilidad tipo II o reacción citotóxica . . . . . 81
1.12.4. Reacción de hipersensibilidad tipo III o reacción por complejos inmunes . . . . . 83
1.12.4.1. El fenómeno de Arthus . . . . . 85
1.12.5. Reacción de hipersensibilidad tipo IV o reacción tardía . . . . . 87
1.12.6. La inflamación alérgica: una realidad compleja . . . . . 89
**1.13. Tolerancia inmunológica** . . . . . 93

**2ª Parte: Enfermedades alérgicas comunes** . . . . . 99

**2.1. La atopia: una predisposición genética** . . . . . 99
**2.2. Rinitis estacionales o periódicas: la fiebre del heno** . . . . . 100
**2.3. Rinitis perennes o aperiódicas** . . . . . 101

2.3.1. Poliposis nasal . . . 101
2.3.2. Extirpación de las vegetaciones y de las amigdalas . . . 101
**2.4. Asma** . . . 101
2.4.1. Asma e hiperreactividad bronquial . . . 103
2.4.2. Cascada de mediadores e inflamación . . . 103
2.4.2.1. Mediadores preformados . . . 103
2.4.2.2. Mediadores neoformados . . . 103
2.4.3. Obstrucción bronquial. Las fases histopatológicas del asma . . . 105
**2.5. Urticaria y edema de Quincke** . . . 108
**2.6. Eczema de contacto** . . . 108
**2.7. Eczema atópico** . . . 109
**2.8. Pulmón de granjero y otras enfermedades por complejos inmunes de tipo III (Alveolitis alérgicas extrínsecas)** . . . 109
**2.9. Test cutaneos en alergología** . . . 111
**2.10. Hiposensibilización** . . . 112
**2.11. El tratamiento de las alérgias tipo I a grandes rasgos** . . . 113

## 3ª Parte: Elementos de patología inmune . . . 114
**3.1. Gammapatías** . . . 114
**3.2. Inmunodeficiencias** . . . 114
3.2.1. Inmunodeficiencias humorales . . . 114
3.2.2. Inmunodeficiencias celulares . . . 114
3.2.3. Inmunodeficiencias mixtas . . . 115
3.2.4. Inmunodeficiencias no específicas . . . 115
**3.3. Inmunodeficiencia adquirida: el SIDA** . . . 117
**3.4. Inmunopatología renal** . . . 123
**3.5. Transplantes de órganos: la reacción de rechazo** . . . 124
**3.6. Reacción del injerto contra el huesped (GVH)** . . . 129
**3.7. Tratamientos inmunosupresores** . . . 131
**3.8. Enfermedades autoinmunes** . . . 133

## 4ª Parte: Vacunas . . . 137
**4.1. Alergenos naturales y alergenos recombinantes** . . . 137
**4.2. Vacunas antitoxinas, antimicrobianas y antivirales** . . . 139
**4.3. Malaria: la busqueda de una vacuna. Las dificultades** . . . 141
4.3.1. El ciclo del parasito . . . 141
4.3.2. Ensayos para la producción de la vacuna antimalaria . . . 141
4.3.3. La ingenería genética al servicio de la inmunología . . . 142
**4.4. Investigación y esperanza en la inmunoterapia del cancer** . . . 143
**4.5. Vacunar a los peces** . . . 149

## 5ª Parte: Test inmunológicos in vitro . . . 151
**5.1. Inmunodifusión** . . . 151
**5.2. Determinación de las principales fracciones proteicas del suero por inmunodifusión radial (Mancini)** 153
**5.3. Electroforesis de proteinas** . . . 155
**5.4. Inmunoelectroforesis** . . . 157
**5.5. Aglutinación y hemaglutinación pasiva** . . . 159
**5.6. Inmunofluorescencia** . . . 161
**5.7. Quimioluminescencia** . . . 165
**5.8. La técnica ELISA** . . . 165
**5.9. Inmunoblotting (Western Blot)** . . . 167
**5.10. Determinación de las IgE específicas para los alergenos: RAST/CAP** . . . 169
**5.11. Otros métodos de determinación de las IgE** . . . 171
5.11.1. Técnicas de "tiras" . . . 171
5.11.2. Método "CLA" (chemoluminescent assay) . . . 173
**5.12. Test de rosetas** . . . 175
**5.13. Test de transformación linfoblástica (TTL)** . . . 177
**5.14. FACS o citofluorometría de flujo (flow cytometry)** . . . 179
**5.15. Test de liberación de mediadores celulares** . . . 181
**5.16. La biologia molecular, hermana gemela de la inmunología. Test rápido para el diagnóstico de la tuberculosis** . . . 183

# Index


**A**

aborto clonal 94
ácaros del polvo 111
agammaglobulinemias 114
aglutinación 159
alergeno 5
alergenos alimentarios 112
alergenos recombinantes 137
anafilatoxinas 73
anatoxinas 139
anérgico 97
anticuerpo 5
anticuerpos antinucleares 133
anticuperpos bloqueantes 112
anticuerpos monoclonales 57
anticuerpos quiméricos 67
antígenos 143
antihistamínicos 113
asma 103
asma intrínseco 103
aspergilosis broncopulmonar alérgica 109
atopia 100

**B**

basófilo 77
bazo 21
bioluminescencia 173
broncodilatadores betamiméticos 113

**C**

C3 convertasa 71
canal torácico 27
CAP-test 169
CD40 receptor 53
célula de Hargraves 135
células de Langerhans 13, 35
ciclosporina 131
citofluorometría de flujo 179
clases de inmunoglobulinas 49
clonaje del genoma 67
complemento 71
corticoides 113
cristales de Charcot-Leyden 9
cromoglicato disódico 113

**E**

eczema atópico 109
eczema de contacto 108
edema angioneurótico 108
electroforesis 155
ELISA 165
enfermedades autoinmunes 133
eosinófilos 9, 11
epítopos 5, 55

**F**

factores histamino-liberadores 43
factores quimiotácticos 79
fase tardía, reacción anafilactica 89, 107
FceRI receptor 11
FceRII receptor 53
fenómeno de Arthus 85
fenómeno de degranulación 77
fenómeno de homing 19
fitohematoglutinina (PHA) 177
fragmentos Fab, Fc 45

**G**

ganglios linfáticos 19

**H**

hapteno 5
hemaglutinación 159
hibridoma 57
hiperreactividad bronquial 103
hipersensibilidad retardada 75
hipodensos, eosinofilos 11
hiposensibilización 112
histamina 79, 103

**I**

IL-4 53
inflamación aguda 3
inflamación alérgica 91
inflamación linfomonocitaria 91
inflamación piogena 91
inmunocintigrafía 59
inmunodifusión 151
inmunoelectroforesis 157
inmunofluorescencia 135, 161
inmunoglobulinas 45, 49
  IgA 49
  IgA secretora 49
  IgD 49
  IgE 49, 53, 169
  IgG 49
  IgM 49
inmunoterapia antitumoral 143
interferón 41
interleuquinas 41

**L**

leucotrienos 79, 105, 181

liberación de histamina 181
liberadores de histamina 89
linfoblasto 177
linfoblasto B 29
linfocitos B 13
linfocitos CD4 efectores 15
linfocitos citotóxicos 13
linfocitos K o Killer 15
linfocitos T 13, 31
linfocitos T CD4 117
linfocitos Th 13
linfocitos Th 1 112
linfocitos Th2 112
linfocitos Ts 13
linfoquinas 13, 41

**M**

macrófagos 35
malaria 141
mastocito 77
mastocitos tisulares (CTMC) 13
mastocitos de las mucosas (MMC) 13
metodo CLA 173
MIF (Migration Inhibitory Factor) 87
monocitos 13

**N**

neutrófilos 3, 7
normodensos, eosinofilos 11

**O**

oftalmia simpática 133
opsonización 37
orquitis 133

**P**

PAF 79, 105
patch-test 111
placas de Peyer 23
plaquetas 15
plasmocitos 15, 45
polinosis 100
pólipos 101
PRC (Polymerase Chain Reacction) 69
precipitado 151
prick-test 111
priming 43, 89
prostaglandinas 79
prostanglandinas 103
proteina básica mayor, eosinofilos 11
pulmón de granjero 109

**Q**

quimioluminescencia 165

**R**

RAST 169
reacción anafiláctica 75
reacción citotóxica 75, 81
reacción granulomatosa 91
reacción por complejos inmunes 75, 83
reacción retardada 87
reacciones cruzadas 5
reacciones pseudoalérgicas 43, 89
receptor del linfocito T (TCR) 39
reconocimiento de lo propio 17
releasability 181
respuesta primaria 51
respuesta secundaria 51

**S**

sarcoma de Kaposi 117
scratch-test 111
seroterapia 139
SIDA 117
síndrome de Goodpasture 123
síndrome de Wiskott-Aldrich 114
sistema HLA 124
sistema mayor de histocompatibilidad CMH 124
sorting, celulas (FACS) 179

**T**

Técnicas de tiras 171
teofilina 113
test de Coombs 159
test de rosetas 175
test de transformación linfoblástica (TTL) 177
timo 17
tiras de nitrocelulosa 165
TNF (Tumor Necrosis Factor) 41
tolerancia inmunológica 93
tratamientos inmunosupresores 131
tuberculosis 183

**U**

unidad AU 137
urticaria aguda 108

**V**

vacunoterapia 139
virus VIH 117

**W**

Western Blot 167

# Prólogo a la tercera edición

Los importantes avances realizados en inmunología en estos últimos años, han desembocado en innumerables aplicaciones prácticas. Por esto se ha vuelto prácticamente indispensable el tener un mínimo de conocimientos en este complejo terreno.Los primeros pasos son a menudo hoscos y dificiles. Por esta razón se ha concebido el "ATLAS DE INMUNOALERGOLOGIA", un trabajo de iniciación, y esencialmente de divulgación y simplificación.

El éxito de las dos primeras ediciones (1979 y 1990) nos ha animado a la redacción de la tercera puesta al día que incluye un cierto número de novedades y comprende una pequeña incursión en la biología molecular, "hermana gemela" de la inmunología.

Damos las gracias a todos aquellos que nos han aportado sus valiosos consejos, principalmente al Dr. P. Wynants (Mont-Godinne), M. Bricteux (Eurogentec), M. J. P. Vander Geeten (DPC),así como a los Prof. B. Stadler y C. Dahinden (Berna).

# Introducción

*La inmunología estudia los mecanismos por los cuales el organismo se defiende contra la invasión por parte de sustancias extrañas por pequeñas que sean. El principio fundamental de esta lucha es el reconocimiento de lo "propio" y lo "extraño".*

*Bajo el término de inmunidad se engloba el conjunto de reacciones que llevan a neutralizar y a eliminar todas aquellas sustancias extrañas. De manera muy esquemática,se podría decir que la respuesta inmune aparece en el momento de la unión del antígeno con el anticuerpo. Veremos como en realidad la respuesta inmune conlleva numerosas reacciones en cadena. Estas son en principio beneficiosas, pero desgraciadamente no siempre juegan un papel favorable. Las reacciones de defensa pueden estar disreguladas y sus acciónes sobrepasar sus límites, llevando de este modo a reacciones funcionales inadecuadas o a lesiones orgánicas. Estas reacciones nocivas reciben el nombre de hipersensibilidad o alergia. Por otra parte, ciertos elementos del organismo pueden modificarse (por ejemplo trás una infección viral) no siendo ya reconocidos como propios. En este caso, el organismo puede reaccionar contra sus propios tejidos. Este el caso de las enfermedades autoinmunes.*

*Las respuestas inmunes son específicas. Trás un primer contacto con una sustancia extraña el organismo, a través de su sistema inmune, es capaz de reconocer esta sustancia. Se elabora una reacción de defensa llamada específica,es decir que estará exclusivamente dirigida contra la sustancia que ha suscitado dicha reacción. A esta sustancia se le llama antígeno (Ag). Cuando el Ag aparece de nuevo en el organismo es reconocido instantaneamente y se pone en marcha el mecanismo de defensa (fenómeno de memoria). El organismo es capaz de reconocer, después de un primer contacto, todas las sustancias que nos rodean; es decir un número considerable de antígenos. La inmunidad esta asegurada por una serie de células especializadas (inmunidad celular) y por sustancias solubles llamadas anticuerpos (inmunidad humoràl). Es preciso añadir a las reacciones de defensa un sistema enzimático complejo no específico: el complemento.*

*La distinción entre inmunidad humoral y celular es meramente teórica, ya que los diferentes mecanismos están generalmente asociados y dependen el uno del otro.*

*Veremos a grandes rasgos estos diferentes factores y sus mecanismos de funcionamiento. La inmunología es una rama muy compleja, que obliga desde el punto de vista pedagógico, para hacerla comprensible, a esquematizaciones y simplificaciones. Como veremos en el libro, habrá también repeticiones que irán acercando al lector cada vez a los elementos básicos. Este atlas es una simple introducción al estudio de la inmunología.*

*Además aporta los elementos necesarios para el conocimiento de las enfermedades alérgicas así como las bases teóricas y prácticas para su diagnóstico y tratamiento.*

*Los autores de esta nueva edición del atlas de Inmunoalergología han tenido dos objetivos primordiales:*

1. *Presentar,de manera inteligible, al lector inexperto* ***los conceptos y definiciones esenciales*** *de la inmunoalergología, sin querer entrar en detalles, dando una visión más o menos completa de los numerosos factores inmunológicos identificados.*
2. *Ilustrar el texto con* ***imagenes realistas*** *correspondientes a lo que el observador puede, en efectivo, ver del sistema inmunológico; bien sea a simple vista o al microscopio. En esto el atlas se diferencia de la mayor parte de los tratados de inmunología moderna,basados en su mayor parte en esquemas abstractos.*

# LA INFLAMACION AGUDA

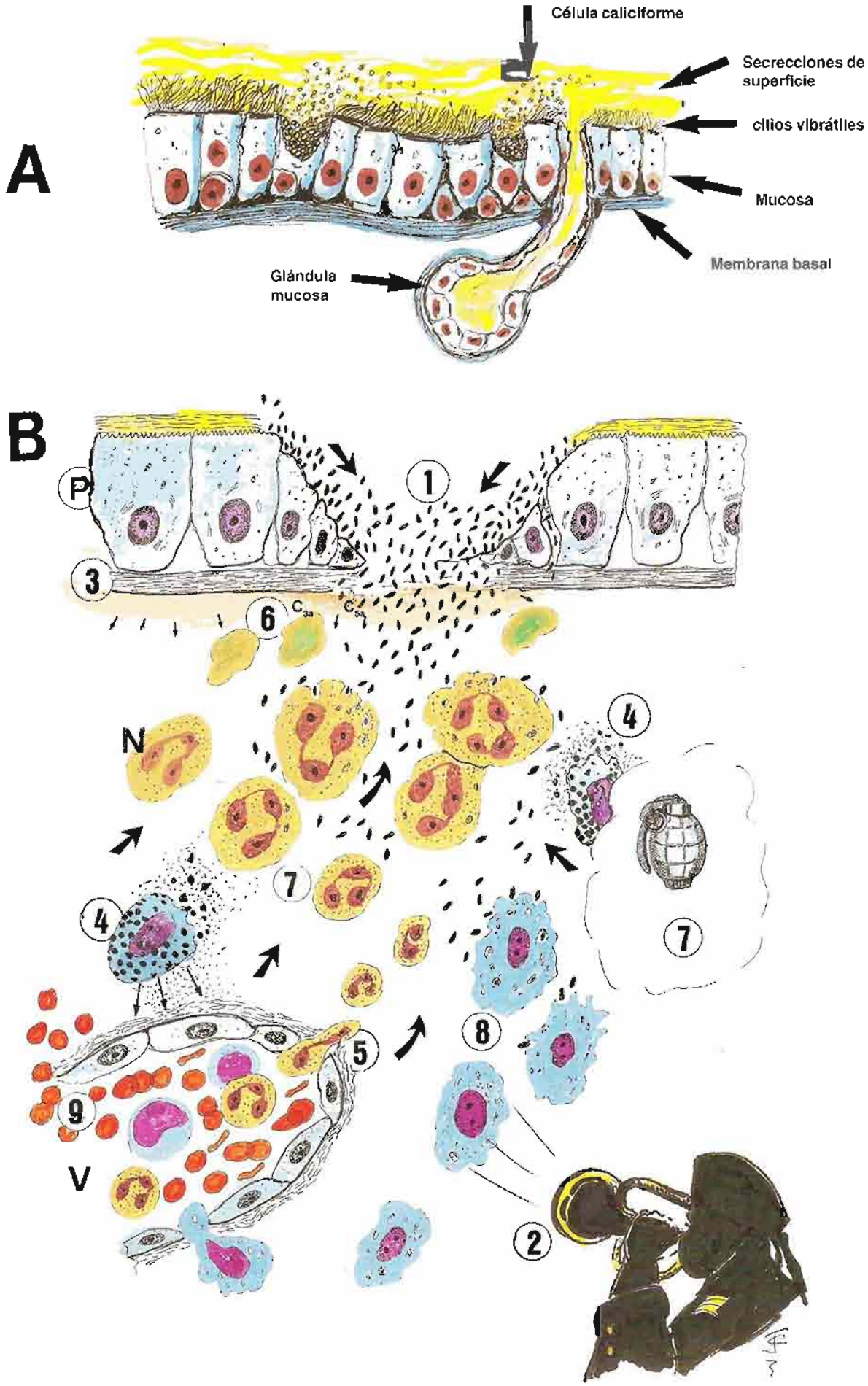



Figura 1

1ª Parte

# Mecanismos fundamentales en inmunología

## 1.1. Mecanismos de defensa no específicos: la inmunidad natural

A. Las barreras pasivas o físicas como por ejemplo la piel, las mucosas y el sistema mucociliar, impiden normalmente la penetración en el organismo de agentes extraños. Las secreciones de estas superficies tales como los ácidos gástricos, las lisozimas, las lágrimas,los ácidos grasos bactericidas, secreciones sebaceas, etc., juegan un papel protector importante. **(Figura 1A)**

B. Una vez traspasada esta linea de defensa mucosa o cutanea (P), aparece rápidamente una reacción específica: la **Inflamación aguda (Figura 1B)**.

La inflamación aguda constituye la primera linea de defensa activa del organismo. A partir de la penetración de un elemento extraño ❶, como por ejemplo una bacteria, se pone en marcha el sistema de alerta ❷ gracias a una cascada de mecansimos. Las sustancias extrañas (bacteria) activan la vía alternativa del complemento ❸. Esta activación da lugar a la liberación de fragmentos quimiotácticos de los neutrófilos y macrófagos (por ejemplo los fragmentos C3a y C5a del complemento). ❹ Los mastocitos repartidos en el tejido conectivo perivascular liberan de manera no específica, al menor traumatismo o trás el contacto con toxinas o microbios, proteasas y otras sustancias químicas. Se produce una liberación de histamina y otros mediadores cuyo papel es provocar una dilatación capilar con el consiguiente aumento de la permeabilidad capilar. Se produce así una filtración del líquido hacía el exterior de estos capilares. Este fenomeno de "escape" se manifiesta bajo la forma de un edema local.

Los neutrófilos (N) son atraidos hacía el lugar de invasión que constituye su blanco. Estos ejercen dos funciones: la fagocitosis y la liberación de potentes enzimas. Los neutrófilos provienen de la sangre (V = vaso sanguineo). La primera etapa de su migración la constituye la adherencia al endotelio capilar ❺. A continuación atraviesan la pared capilar gracias a movimientos ameboides. La penetración se produce entre dos células. Estas parecen retraerse en el momento del paso del neutrófilo. La membrana basal es igualmente atravesada gracias a un enzima de tipo cologenasa. Los neutrófilos ❼ se dirigen a atacar a su blanco, a fagocitarlo y destruirlo. Los neutrófilos "muertos en el combate" constituyen los glóbulos de pus ❻. Los macrófagos ❽ captan a los elementos que traspasan la segunda linea de defensa. La importante migración de los neutrófilos conlleva la extravasación de algunos glóbulos rojos, lo que provoca las pequeñas microhemorragias que se observan siempre en la inflamación aguda ❾. Las plaquetas juegan también un papel en la inflamación.

Al final de la reacción aguda, si no se ha eliminado al agente agresor, se ponen en marcha, con la llegada de los linfocitos, los **mecanismos inmunológicos específicos (inflamación crónica).**

# ANTIGENO-ANTICUERPO
(Ag-Ac)

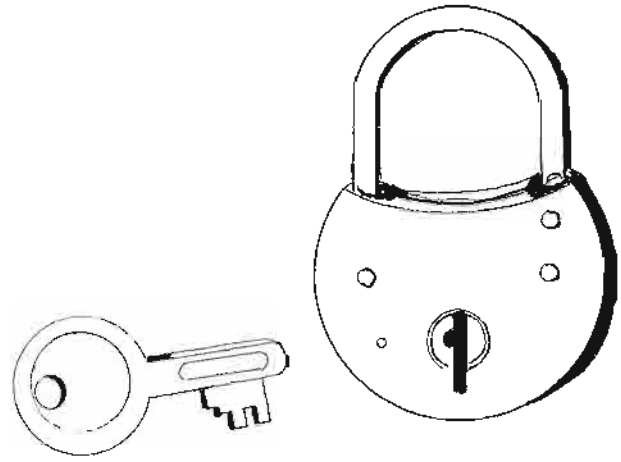


Imagen de la complementariedad
antígeno-anticuerpo: la llave y la cerradura

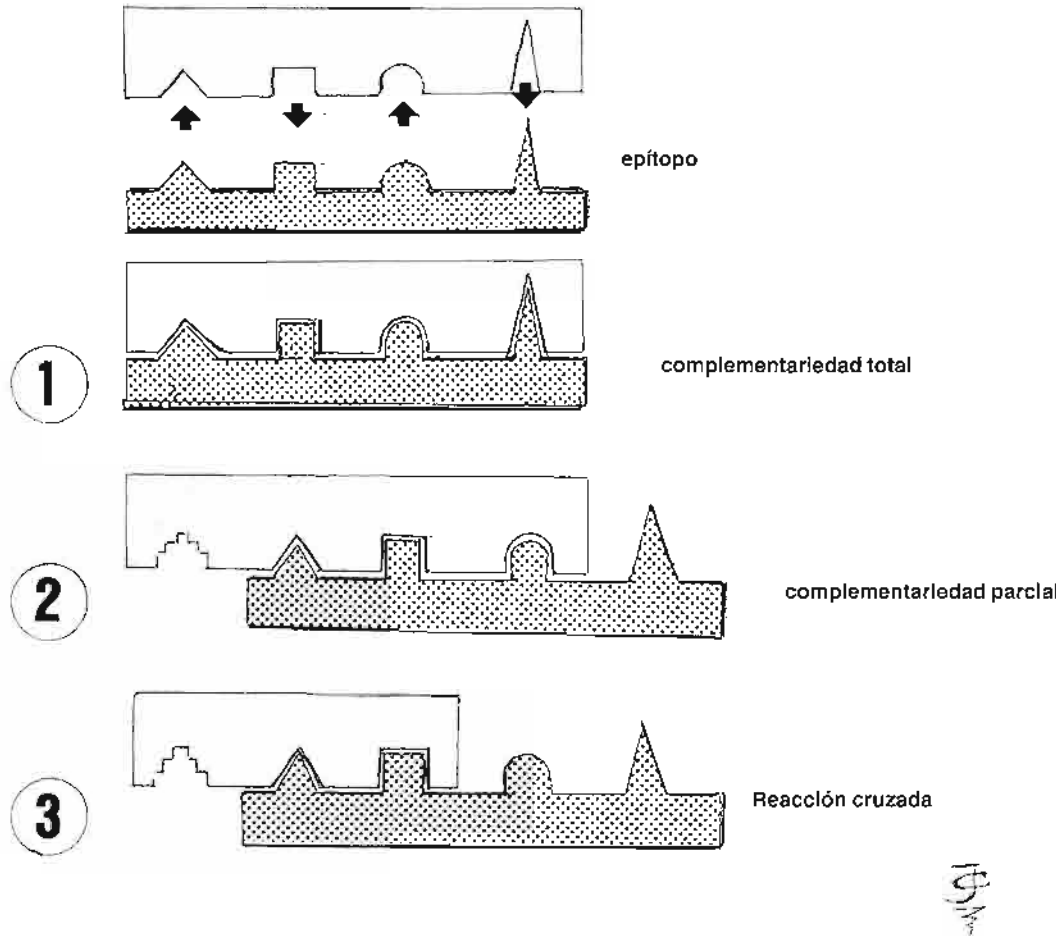



Figura 2

## 1.2. Antígenos y anticuerpos

Recordemos algunas definiciones esenciales.

- **Inmunogeno**: sustancias capaces de provocar una respuesta inmune
- **Anticuerpo**: sustancia (inmunoglobulina) capaz de reaccionar específicamente con un antígeno.
- **Antígeno**: sustancia capaz de inducir una reacción inmune específica.
- **Alergeno**: antígeno capaz de inducir una reacción alérgica, es decir una reacción inmune anormal y exagerada.
- **Hapteno**: molécula de pequeño tamaño incapaz de provocar por sí misma una respuesta, pero que al unirse a una proteína es capaz de provocarla. Esta proteína se llama **"proteína portadora"** o **"carrier"**. Son haptenos las sustancias inorgánicas, lípidos, ácidos nucleicos, ciertos medicamentos como la penicilina, etc.. La proteína portadora puede encontrarse en la piel, en la membrana de un glóbulo rojo o de una plaqueta, etc.

La reacción inmune va dirigida a neutralizar, destruir y eliminar el Ag. La naturaleza de la respuesta inmune viene condicionada por la configuración estereoquímica del Ag. Los Ag son en general moléculas grandes con un tamaño entre 5000 y 100.000 daltons. Pero moléculas pequeñas (de menos de 1000 daltons) pueden ser a veces también inmunógenas, como se verá posteriormente. Hay Ag llamados "timo-dependientes" que son en general proteínas de estructura secuencial que actuan sobre el linfocito T y Ag llamados "timo-independientes" que son generalmente polisacáridos de estructura especial que actuan directamente sobre el linfocito B.

Los elementos particulares, es decir: bacterias, virus, parásitos, hongos y glóbulos rojos son Ag que tienen múltiples determinantes que se llaman **determinantes antigénicos** o **epitopos**. Un determinante antigénico es una parte de la molécula capaz de estimular la formación de un anticuerpo.

La reacción inmune se manifiesta por una parte por la aparición de anticuerpos circulantes: **inmunidad "humoral"** y por otra parte, por la intervención directa de células especializadas especificamente sensibles: **inmunidad "celular"**.

La inmunidad humoral y la inmunidad celular pueden actuar separadamente, pero en general actuan en colaboración, como veremos a lo largo del libro, de manera que esta clasificación es más teórica que real.

Los sitios de combinación los anticuerpos son complementarios a los epitopos del antígeno. El ejemplo de la llave y la cerradura sigue en vigor (**Figura 2**). La misma cerradura puede abrirse con una llave que no tenga exactamente la misma configuración que la llave original. Así mismo, un anticuerpo o reciprocamente un antígeno de estructura parecida pueden combinarse. Estas son las **reacciones cruzadas**.

La **Figura 2** ilustra la complementariedad: ❶ complementariedad total, ❷ parcial y ❸ cruzada. Por ejemplo en el caso de la fiebre del heno, el paciente reacciona indistintamente a las diferentes gramineas a pesar de que su composición antigénica no es totalmente idéntica. En la actualidad gracias a los anticuerpos monoclonales y a la producción de alergenos recombinantes (pace), se ha podido configurar la carta antigénica de numerosos pólenes, lo que servirá de modelo para tratamientos de hiposensibilización más precisos. Otro ejemplo de reacción cruzada es la vacunación, tras la cual se suscita la aparición de anticuerpos específicos usando bacterias o virus muertos o atenuados, o una toxina neutralizada (anatoxina, es decir toxina modificada). Los anticuerpos producidos son capaces de neutralizar al alergeno bacteriano vivo o a las toxinas secretadas por ciertas bacterias (por ejemplo tétanos).

Un anticuerpo, es decir una inmunoglobulina, posee el mismo lugare de unión para los antígenos capaces de **inducir anticuerpos**. Estos lugares de unión situados bien en la zona variable, llamandose **idiotipos** o bien en la zona constante, llamandose **isotipos**.

# LAS CELULAS DEL SISTEMA INMUNE

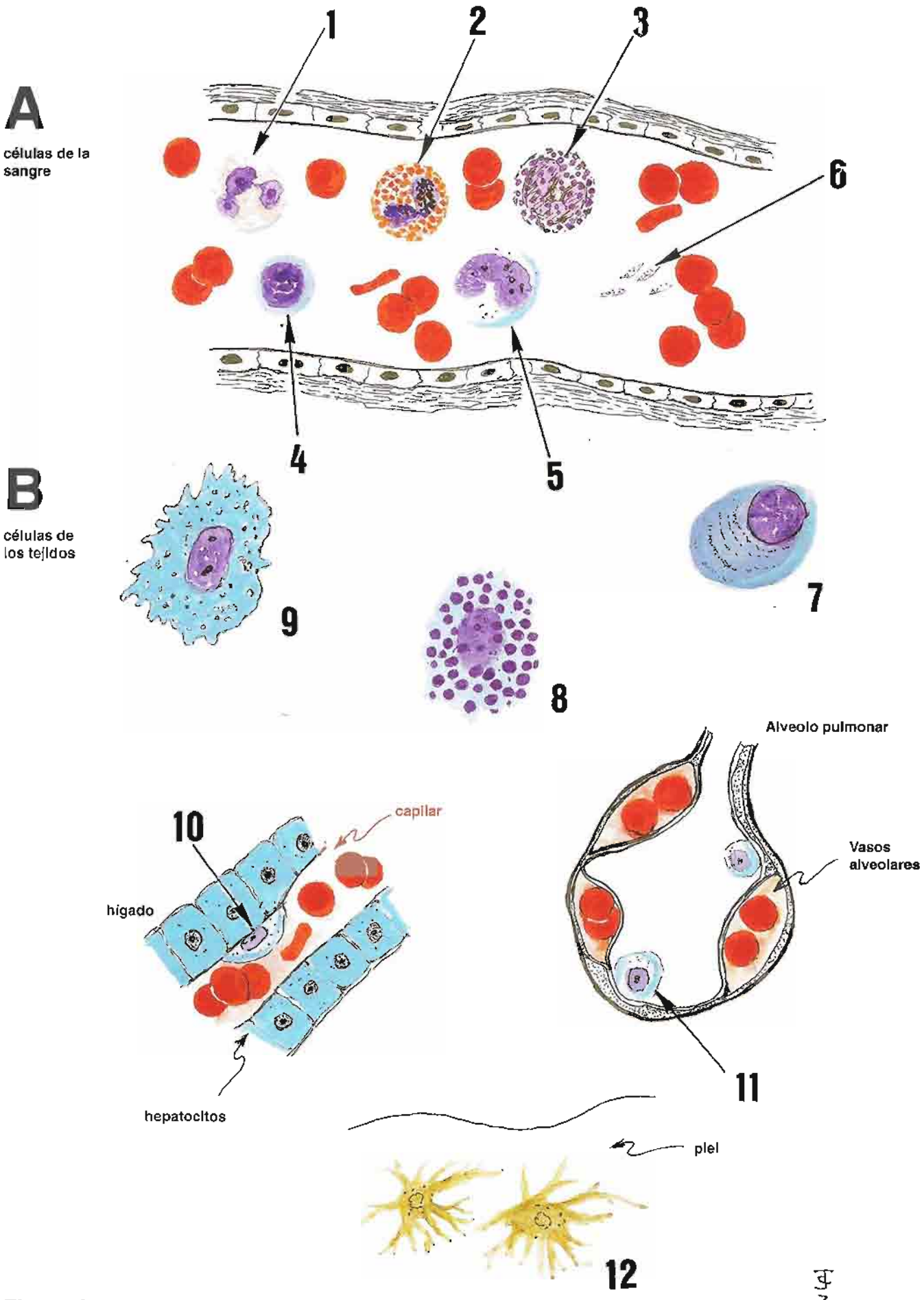



Figura 3

# 1.3. Células del sistema inmune

## 1.3.1. Generalidades

Las nociones elementales de hematología se dan por sabidas. Recordaremos simplemente el papel principal de las células del sistema inmune y volveremos a ver en detalle, ciertos elementos importantes en los próximos capítulos. La **Figura 3** representa el "retrato de familia" de las células del sistema inmune. **En A, las células presentes en la sangre:** ❶ neutrófilo polimorfonuclear, ❷ eosinófilo polimorfonuclear, ❸ basófilo polimorfonuclear, ❹ linfocito, ❺ monocito, ❻ plaquetas.

**En B, se representan las células presentes en los tejidos:** ❼ plasmocito, ❽ mastocito, ❾ macrófago ❿ célula de Kupffer en el hígado, ❶❶ macrófago alveolar (célula "del polvo"), ❶❷ célula de Langerhans de la piel. Las células sanguíneas migran fuera de los capilares para llevar a cabo su papel. Por el contrario las células de los tejidos normalmente no migran hacía los capilares, siendo en su mayoría fijas.

Las células del sistema inmune tienen dos papeles fundamentales: la **fagocitosis** y la **síntesis de mediadores**. Estos dos papeles pueden estar presentes simultaneamente en las diferentes células.

**Las células predominantemente fagocitarias** son los neutrófilos polimorfonucleares, los monocitos, los macrófagos y los eosinófilos polimorfonucleares. Hay que añadir el sistema fagocitario fijo llamado **sistema macrofágico o sistema reticuloendotelial.**

Las células predominantenemente secretoras son los linfocitos, los plasmocitos, los mastocitos,los basófilos así como las plaquetas. Estas células son capaces de secretar numerosas sustancias llamadas **mediadores** que poseen múltiples funciones, siendo su papel final la destrucción de los invasores. Estos mediadores permiten a las células comunicarse entre sí, transmitir ordenes, provocar reacciones diversas, etc. Todas estas células poseen en su superficie, incluidos en su membrana, **receptores** más o menos específicos. Estos permiten a la célula "fijar" múltiples células y sustancias biológicas: microbios, virus, hormonas, mediadores, complemento, anticuerpos, antígenos, etc. Estas células tienen también incluidas en la superficie de su membrana moléculas específicas que les permiten ser reconocidas. Son los **marcadores.**

## 1.3.2. Descripción breve de las diferentes células del sistema inmune

### 1.3.2.1 Neutrófilos polimorfonucleares – Fig. 3 ❶

Representan alrededor del 45–75% de las células sanguíneas circulantes (4000–10.000/mm$^3$). Constituyen la primera línea de defensa **(Fig. 1 B)**. Captan y posteriormente destruyen numerosos antígenos, sobre todo microbios, gracias a enzimas (hidrolasas ácidas, mieloperoxidasa, muraminidasa o lisozima) contenidas en sus lisosomas (una especie de "mini-estómago") **(Fig. 19)**. Los lisosomas se ven al microscopio óptico como pequeños gránulos. Una vez destruido el invasor, los neutrófilos son frecuentemente víctimas de su "devoción", autodestruyendose por las toxinas que ellos mismos han fagocitado. Son los "kamikaces" de la defensa.

Intervienen fundamentalmente en los ataques bacterianos agudos, pero también en las lesiones isquémicas así como en los procesos de eliminación de células y tejidos necrosados. Pueden reconocer el complejo Ag-Ac y fagocitarlo. Los fragmentos C3a y C5a del complemento tienen una acción quimiotáctica sobre los neutrófilos, atrayéndolos al lugar de la invasión inmediatamente después de la intrusión de una sustancia extraña **(Fig. 1 B)**. Algunos bacilos, las plaquetas, ciertos mediadores de los leucocitos, etc., tienen así mismo una acción quimiotáctica sobre los neutrófilos.

## DESTRUCCION DE LOS ESQUISTOSOMAS POR EL EOSINOFILO

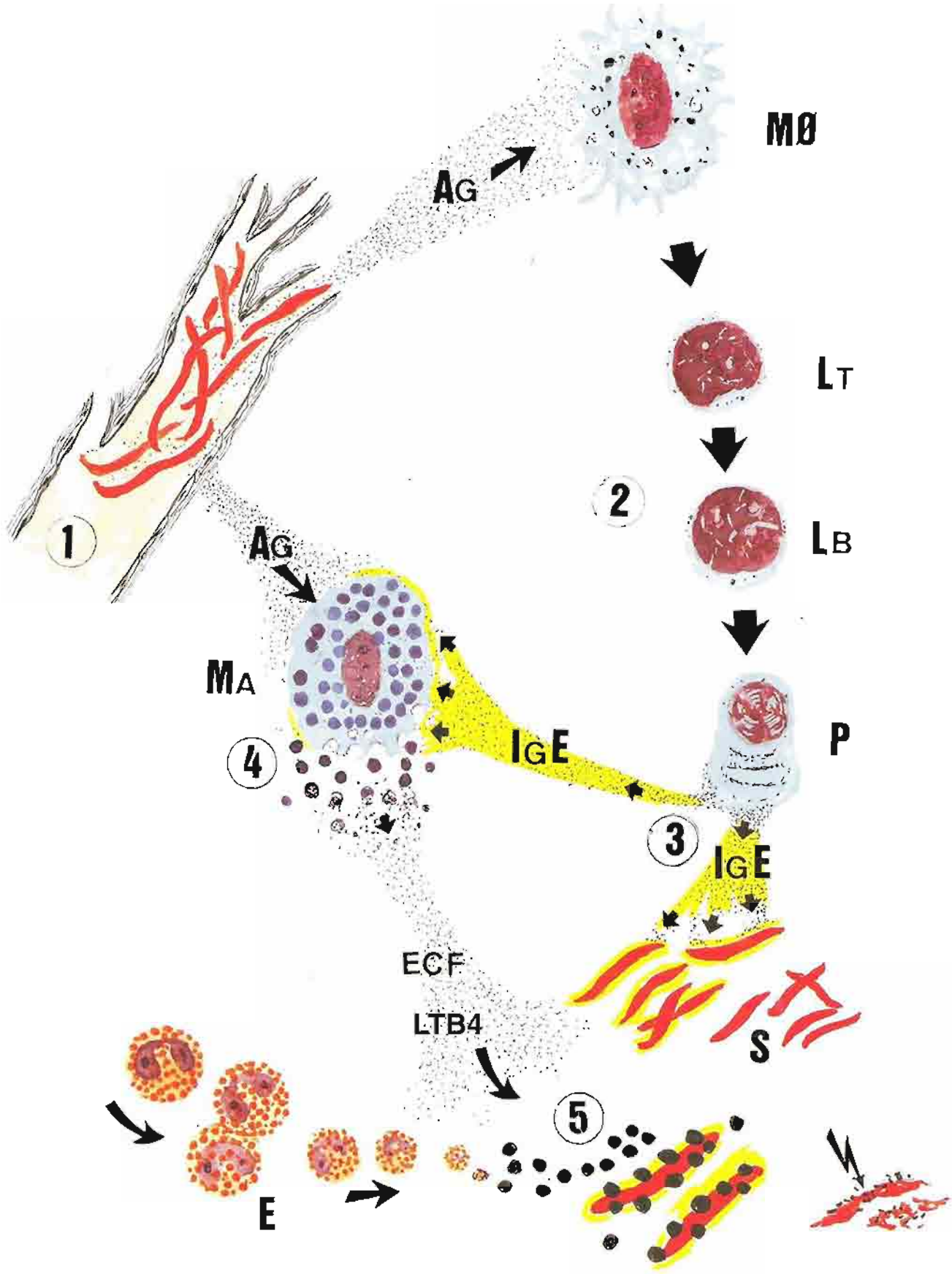



Figura 4

#### 1.3.2.2 Eosinófilos polimorfonucleares – Fig. 3 ❷

Representan el 2–5% de los glóbulos blancos. Su morfología se asemeja a la de los neutrófilos polimorfonucleares, con la diferencia de que contienen grandes gránulos rojos (tinción de eosina) y cristales refringentes que se pueden encontrar en el esputo de los asmáticos **(cristales de Charcot-Leyden)**. Los eosinófilos intervienen sobre todo en la alergia, en la defensa contra algunos parásitos, en fenómenos inflamatorios crónicos y quizás también en la defensa contra el cancer. Al igual que los neutrófilos no retornan a la médula osea, de donde provienen, sino que son eliminados por las mucosas.

Desde que se conoce mejor el aspecto bifásico de ciertas crisis de asma (**fase aguda** y ± 6 horas después **fase tardía**) se sabe que los eosinófilos, atraidos a la zona inflamatoria, provocan en la fase tardía una destrucción importante de la mucosa bronquial **(Fig. 6)**. El fenómeno es bastante parecido al que se produce cuando los eosinófilos destruyen algunos parásitos tales como los esquistosomas **(Fig. 4)** responsables de la esquistosomiasis o bilharziasis.

Recordemos lo esencial de este mecanismo, esto nos permitirá comprender mejor el papel de la eosinofilia.

Los esquemas de las **Figuras 4** y **5** representan la destrucción de las larvas del esquistosoma por un mecanismo inmunológico.

**Figura 4**: En ❶ después de haber penetrado por la piel, el Schistosoma mansoni se aloja en las venas mesentéricas, mientras que el Schistosoma haematobium se aloja en los plexos perivesicales. Desde allí liberan antígenos (Ag) que son captados por los macrófagos (Mø) los cuales los presentan a los linfocitos T (LT). Estos activan a los linfocitos B (LB) ❷. Los linfocitos B se tranforman en plasmocitos (P) secretores de IgE específica antiesquistosoma.

Esta IgE por una parte opsoniza ❸ a los esquistosomas (S) y por otra parte se adhiere a los mastocitos (MA). Los antígenos de los esquistosomas entran también en contacto con la IgE fijada a la mebrana de los mastocitos, provocando así la degranulación ❹ con la consiguiente liberación de mediadores como el ECF (Eosinophil Chemotactic Factor) y el leucotrieno B4 (LTB4). Estos últimos atraen a los eosinófilos (E) que se fijan a los esquistosomas ❺ y los destruyen.

## DESTRUCCION DE LOS ESQUISTOSOMAS POR EL EOSINOFILO (continuación)

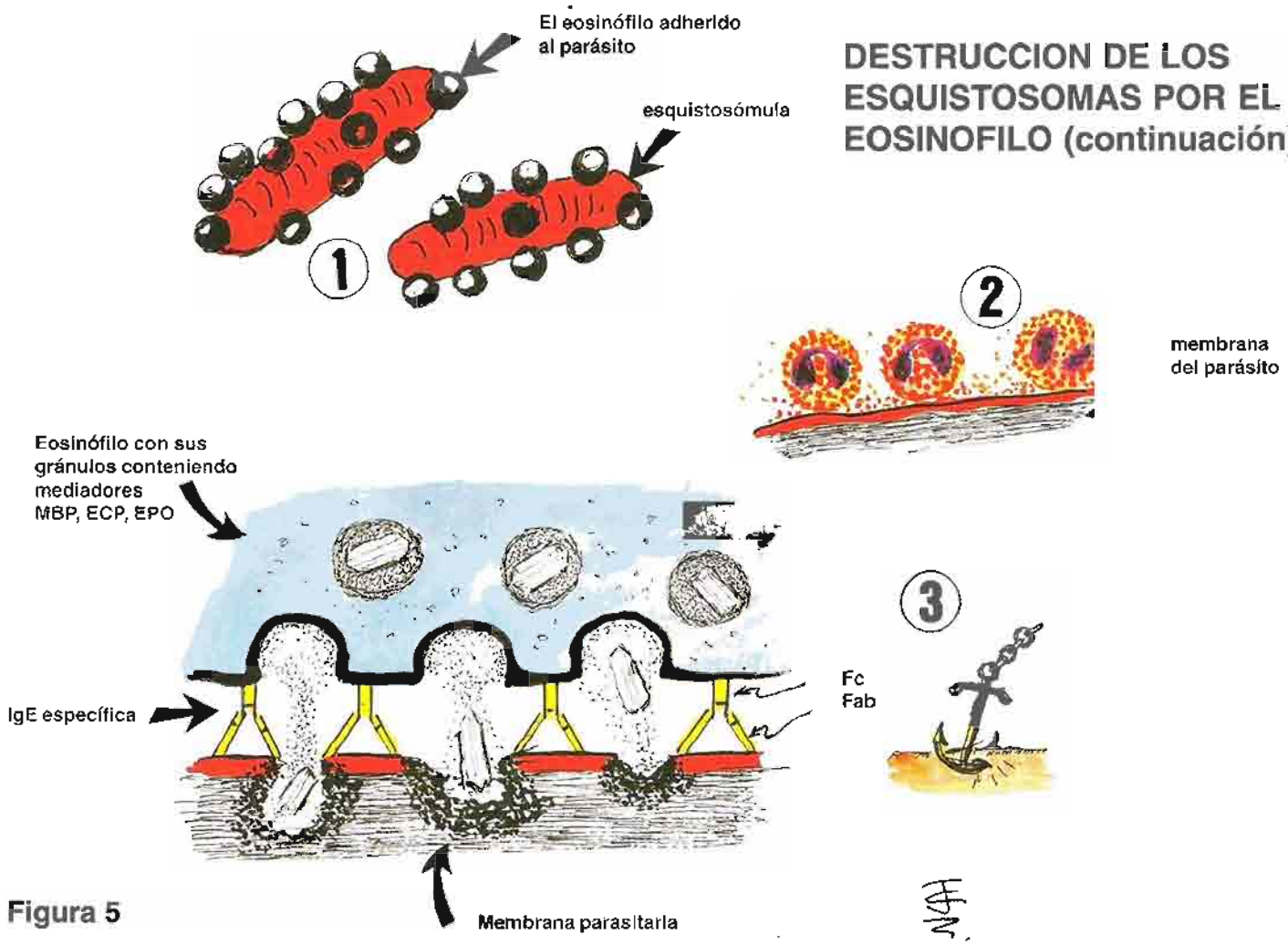



Figura 5

## DESTRUCCION DE LA PARED BRONQUIAL

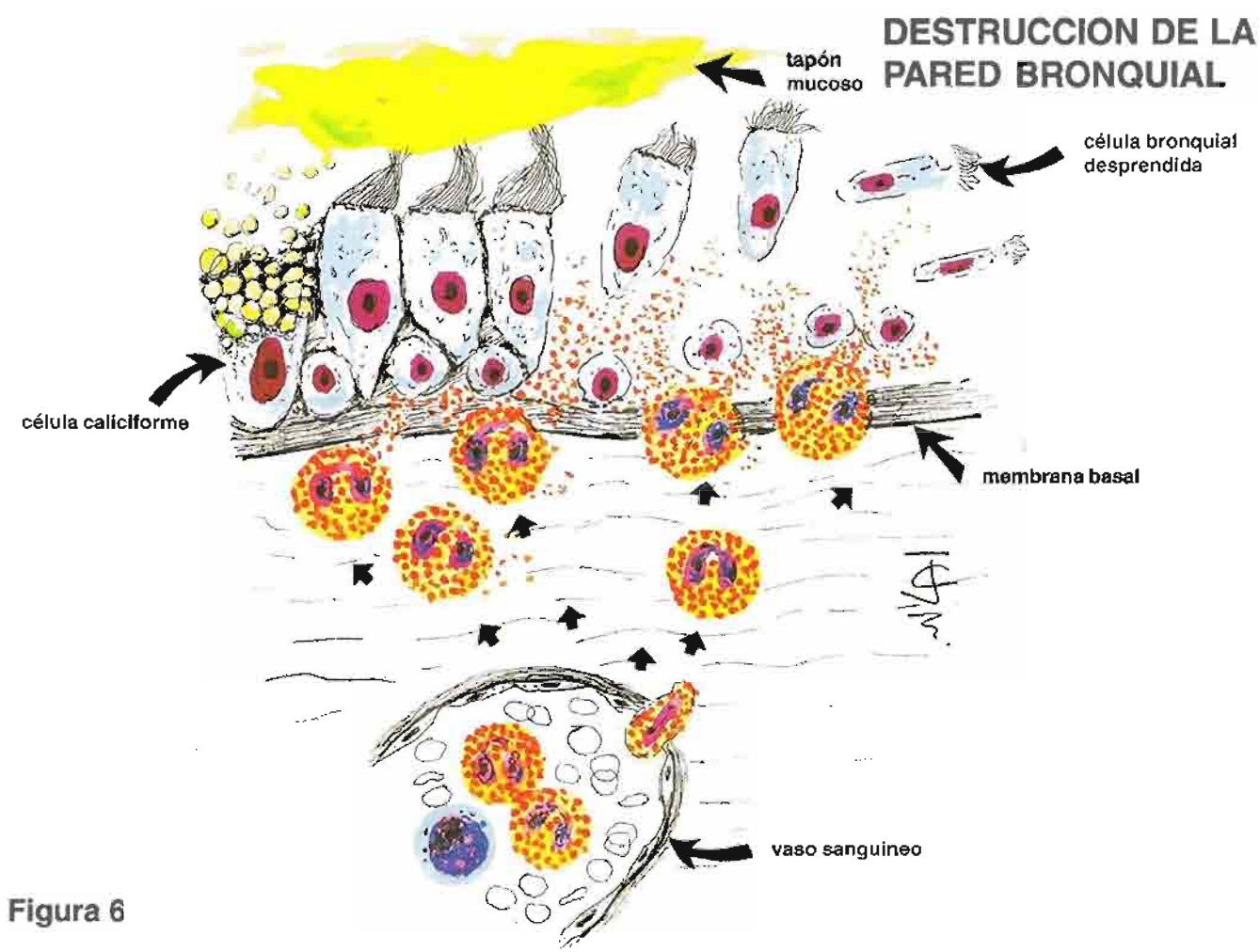



Figura 6

La **Figura 5** esquematiza la acción del eosinófilo.

El contacto del eosinófilo con la membrana parasitaria está asegurado ❷ por la IgE específica que se fija por un lado al parásito por su fragmento Fab y por otra al eosinófilo por su fragmento Fc. El eosinófilo libera factores citotóxicos:

- proteina básica mayor (MBP) que se ve al microscopio electrónico en forma de cristales
- proteina catiónica (ECP)
- peroxidasa (EPO).

En el esquema de la **Figura 5** ❸ se ven estos cristales muy corrosivos penetrar en el parásito provocando su destrucción.

En la fase tardía de las reacciones alérgicas inmediatas mediadas por la IgE, en particular en **el asma**, hay así mismo una invasión de eosinófilos **(Figura 6)** atraidos por diversos mediadores como el PAF. Los eosinófilos migran de los capilares hacía la mucosa bronquial para segregar allí sus mediadores citóxicos: proteina básica mayor (MBP) proteina catiónica (ECP) y peroxidasa (EPO), como en la destrucción de los esquistosomas. Se produce así la destrucción de la membrana basal bronquial y una necrosis progresiva de las células ciliares que comienza con la parálisis de los cilios vibrátiles. Esto lleva a la aparición de tapones mucosos como consecuencía de la falta de drenaje. Finalmente el epitelio bronquial necrosado es eliminado, dejando así una pared bronquial permeable a los antígenos bacterianos y otros.

Es en este estado más tardío y crónico en el que aparece una **hipereosinofilia** sanguinea.

En la actualidad se han descrito varias **subpoblaciones de eosinófilos** separadas según su gradiente de densidad. Así pues se distinguen los eosinófilos **hipodensos** y los eosinófilos **normodensos.** Parece que estas diferentes subpoblaciones corresponden a diferentes grados de activación. Aparentemente son los eosinófilos hipodensos los que liberan MBP contenida en sus gránulos. Estos representan la forma activada.

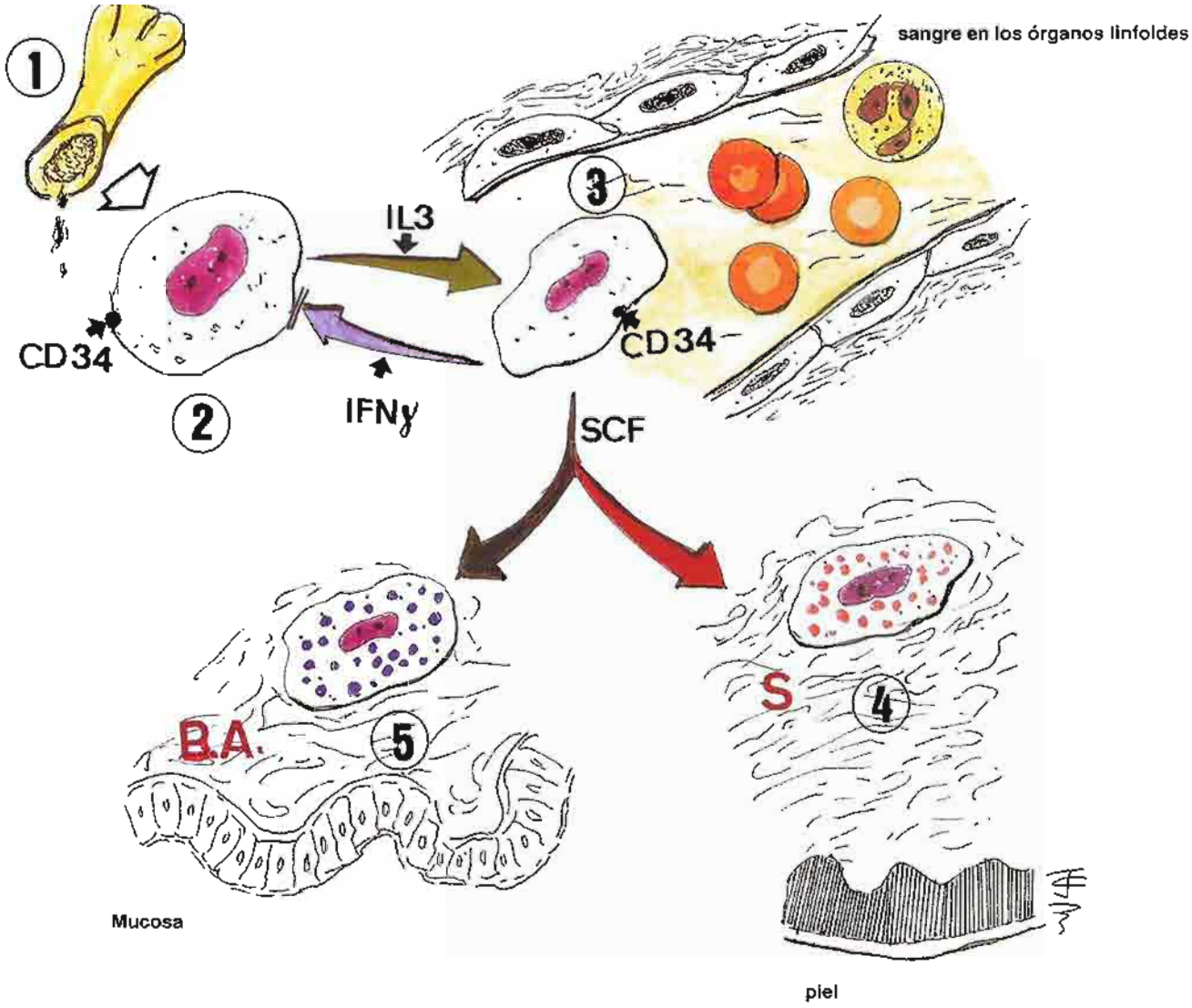
Así mismo, parece que los eosinófilos poseen receptores de baja y alta afinidad para la IgE, en número sin embargo inferior al de los basófilos. Estos receptores explican probablemente la fijación de los eosinófilos a los parásitos recubiertos de IgE **(Figura 5).** Por el contrario, la liberación de mediadores producidos por los eosinófilos trás una interacción entre sus IgE de superficie y un alergeno soluble es todavía motivo de controversia.

#### 1.3.2.3. Basófilos polimorfonucleares – Fig. 3 ❼ y mastocitos – Fig. 3 ❽ y 43.

Los basófilos representan el 0.5% de las células en sangre normal. El equivalente del basófilo en los tejidos es el mastocito. Estas células contienen gránulos voluminosos cargados de histamina, como mediador principal. Además estas células, al ser estimuladas, producen numerosos mediadores o precursores de mediadores: leucotrienos, prostaglandinas, SRS, PAF, etc.. Normalmente, su liberación se produce según la demanda, es decir según las necesidades del organismo. En algunos casos, su liberación es brutal y provoca las reacciones alérgicas llamadas de tipo I, tales como el asma, la urticaria, la fiebre del heno, etc.. Estas reacciones pueden llevar incluso al shock anafiláctico.

Los basófilos y mastocitos poseen en su superficie un receptor de gran afinidad para el fragmento Fc de la IgE **(FcεRI)**. La liberación de sus mediadores, de los cuales el más conocido es la **histamina,** se produce bien por la interacción entre las IgE fijadas a su superficie con el antígeno específico por medio de puentes, o bien por factores no específicos (HRF o Histamine-Releasing-Factors) secretados por diversas células como los mastocitos, linfocitos, monocitos y plaquetas.

## MASTOCITOS TISULARES Y MASTOCITOS DE LAS MUCOSAS




BA: Azul alcian
S: Safranina

Figura 7

**Figura 7:** Se distingen al menos dos tipos de mastocitos: los **matocitos de las mucosas** (MMC: Mucosal Mast Cell) y los **mastocitos tisulares** (CTMC: Connective Tissue Mast Cell) presentes en los espacios perivasculares de los tejidos. Estos dos tipos de mastocitos se diferencian por la composición polisacárida de sus gránulos, demostrable entre otras por una diferencia de color con ciertas tinciones (azul alcián, safranina, **Fig. 7**). Se diferencian igualmente por sus enzimas proteolíticas (triptasa, quimiotripsina). Hay que destacar que solamente los mastocitos poseen triptasa y no así los basófilos. La aparición de triptasa en sangre después de una reacción anafiláctica, es así pues signo de la activación y degranulación de los mastocitos.

### 1.3.2.4 Monocitos, Fig. 3. ❽ – Macrófagos, Fig. 3 ❾ – Células de Langerhans, Fig. 3 ❶❷

Hay aproximadamente un 10% de monocitos en la sangre normal. Sus equivalentes tisulares son los macrófagos. Los monocitos que emigran hacia los tejidos se convierten en macrófagos. Estas células juegan un papel capital en la inmunología. están dotadas de un gran poder fagocitario. Reconocen, gracias a sus receptores, los antígenos opsonizados, es decir marcados e impregnados de anticuerpos específicos. Estos anticuerpos juegan el papel de "salsa que vuelve al antígeno apetitoso para el macrófago". Poseen numerosos lisosomas que les permiten destruir, modificar y almacenar los antígenos. Presentan, gracias a sus receptores de superficie, el antígeno al linfocito, lo que pone en marcha el mecanismo inmunológico ya sea beneficioso o nocivo **(Fig. 19)**.

El reconocimiento del monocito por parte del linfocito viene condicionado por la presencia en la superficie del monocito de antígenos de membrana pertenecientes al complejo de histocompatibilidad HLA.

Algunas células con función fagocitaria forman parte del sistema macrofágico fijo y fagocitan antígenos a su paso. Citaremos las **células de Küpffer del hígado – Fig. 3. ❿**, **los macrófagos alveolares** del pulmón – **Fig. 3. ❶❶** y las células de Langerhans de la piel que juegan el papel de macrófagos – **Fig. 3. ❶❷**. Estas son celulas dendríticas. Poseen **gránulos llamados de Birbeck**, que resultan probablemente de la invaginación de la membrana plasmática.

### 1.3.2.5. Linfocitos – Fig. 3 ❶

Representan el 10–15% de las células de la sangre normal. Son células redondeadas, más pequeñas que las otras células sanguineas. Tienen un gran núcleo denso de estructura tosca y un protoplasma fino. Los linfocitos se diferencian de las células precedentes por el hecho de que estas pueden reaccionar directamente con un antígeno y sintetizar mediadores específicos. Pueden almacenar, como si de un ordenador se tratara, informaciones sobre los antígenos que han ido encontrando (**función memoria** del linfocito). Así pues juegan un papel importante en inmunología. Son móviles pero no fagocitan. Al salir de la médula osea, los linfocitos se dividen en dos grupos: unos migran hacía el timo y lo abandonan bajo la forma de **linfocitos T**. Los otros migran directamente hacía los órganos linfoides, son los **linfocitos B**. Estos últimos adquieren en la médula osea ciertas caracteristicas específicas. El 80% de los linfocitos circulantes tienen una larga vida, de meses hasta años. Tanto los linfocitos T como los B son capaces de reconocer al antígeno gracias a sus receptores de superficie.

Los linfocitos sintetizan numerosos mediadores llamados **linfoquinas**. Colaboran entre sí y con otras células incluidos los macrófagos.

Los linfocitos T no producen anticuerpos, pero pueden producir mediadores capaces de destruir ciertos blancos (ver interleuquinas). Los linfocitos T se dividen en varias subpoblaciones: los **linfocitos Ts** o **linfocitos "supresores"**, cuya acción es depresora o de freno y los **linfocitos Th** o **linfocitos "helper"** o **"efectores"**, cuya acción es estimulante. Hay que añadir los **linfocitos citotóxicos (Tc)** emparentados con los linfocitos Ts.

Los linfocitos B están bajo "el control" de los linfocitos T, los cuales les presentan el antígeno. Los linfocitos Th los estimulan y los Ts frenan su actividad. Los linfocitos T actuan a través de mediadores entre los que se incluyen las interleuquinas 4, 5, 6, 10 y 13.

Nada permite distinguir al microscopio óptico los diferentes linfocitos, si bien sus funciones son muy diversas.

La diferenciación se hace actualmente usando anticuerpos monocionales. Estos reconocen en la superficie de los linfocitos proteínas específicas o **marcadores.** Los Th están codificados por el anticuerpo OKT4 y su marcador se llama **CD4**. Los anticuerpos que reconocen los Ts están codificados por el OKT8 y el marcador se llama **CD8**. Todos los linfocitos T poseen el receptor CD3 (CD o Cluster of Differentiation) reconocido por el anticuerpo OKT3.

Como se indica en la **Fig. 8 A**, los linfocitos T se subdividen igualmente según la conformación de sus receptores específicos (TRC: T Cell Receptor), compuestos bien sea por cadenas $\alpha$ y $\beta$ (TCR2) o por cadenas $\gamma$ y $\delta$ (TCR1). Los primeros pueden dar lugar a los linfocitos CD4, que tienen fundamentalmente una función efectora ("helper"), o a los linfocitos CD8 citotóxicos o supresores. Los linfocitos TCR1 dan fundamentalmente lugar a los linfocitos citotóxicos que llevan el marcador CD8 o que no llevan ni el CD8 ni el CD4. Otra diferencia esencial entre los linfocitos CD4 y CD8 es la naturaleza de los antígenos de histocompatibilidad (MHC) que reconocen sobre las células presentadoras del antígeno. Los linfocitos CD4 reconocen las moléculas MHC de clase II mientras que los linfocitos CD8 reconocen las moléculas MHC de clase I.

Los linfocitos CD4 efectores se dividen así mismo en tres categorías funcionales, según las diferentes citoquinas que son capaces de producir **(Fig. 8 B)**. Mientras que los linfocitos Tho producen gran variedad de citoquinas,los linfocitos llamados Th1 producen fundamentalmente citoquinas IL-2 y IFN$\gamma$, mientras que los linfocitos Th2 producen además de IL-2,las citoquinas "pro-alérgicas" IL-4, IL-3, IL-5 así como IL-6 y IL-10. Las diferencias entre estas subclases de linfocitos CD4 helper son de momento estrictamente funcionales y no parecen estar ligadas a marcadores de superficie fijos, que permitan identificarlos por citofluorometría. La gama de citoquinas producidas por los linfocitos T parece decisiva para determinar el tipo de inflamación provocada por la reacción de defensa inmunológica como respuesta a una bacteria, un virus o cualquier antígeno.

A los linfocitos B y T hay que añadir los **linfocitos K** o **"Killer"** y **los linfocitos NK** o **"natural Killer"**. Estos últimos son unas células citotóxicas cuyo origen es mal conocido. Los K intervienen específicamente y los NK no específicamente en la destrucción de toda célula extraña, así como contra las bacterias y los virus además de contra células anormales como las células cancerosas. El **interferón** gamma estimula la actividad de las células NK. Por último citaremos los **linfocitos nulos (Lo)** que no son ni linfocitos T ni B.

Los linfocitos se agrupan masivamente en los órganos linfoides periféricos (ganglios, bazo, placas de Peyer, etc.) o en otras zonas que les son reservadas. Los linfocitos B migran hacia las zonas llamadas "timo-independientes" mientras que los linfocitos T lo hacen hacia las zonas llamadas "timo-dependientes".

Los linfocitos B estimulados se transforman en **plasmocitos – Fig. 3 ❷** – secretores de inmunoglobulinas. Estas son unas células que poseen un núcleo excéntrico y grande. El citoplasma contiene un retículo endoplasmático rugoso muy desarrollado, verdadera "fábrica de inmunoglobulinas", que es fuertemente basófilo.

#### 1.3.2.6. Plaquetas – Fig. 3 ❸

En la sangre hay aproximadamente 300.000/mm$^3$, provinientes de los megacariocitos de la médula osea. Juegan un papel importante en la coagulación sanguinea pero probablemente también en la inflamación, sobre todo en la fase tardía del asma. Son estimuladas por un mediador llamado PAF (platelet activating factor). La vida media de las plaquetas es de dos a tres días.

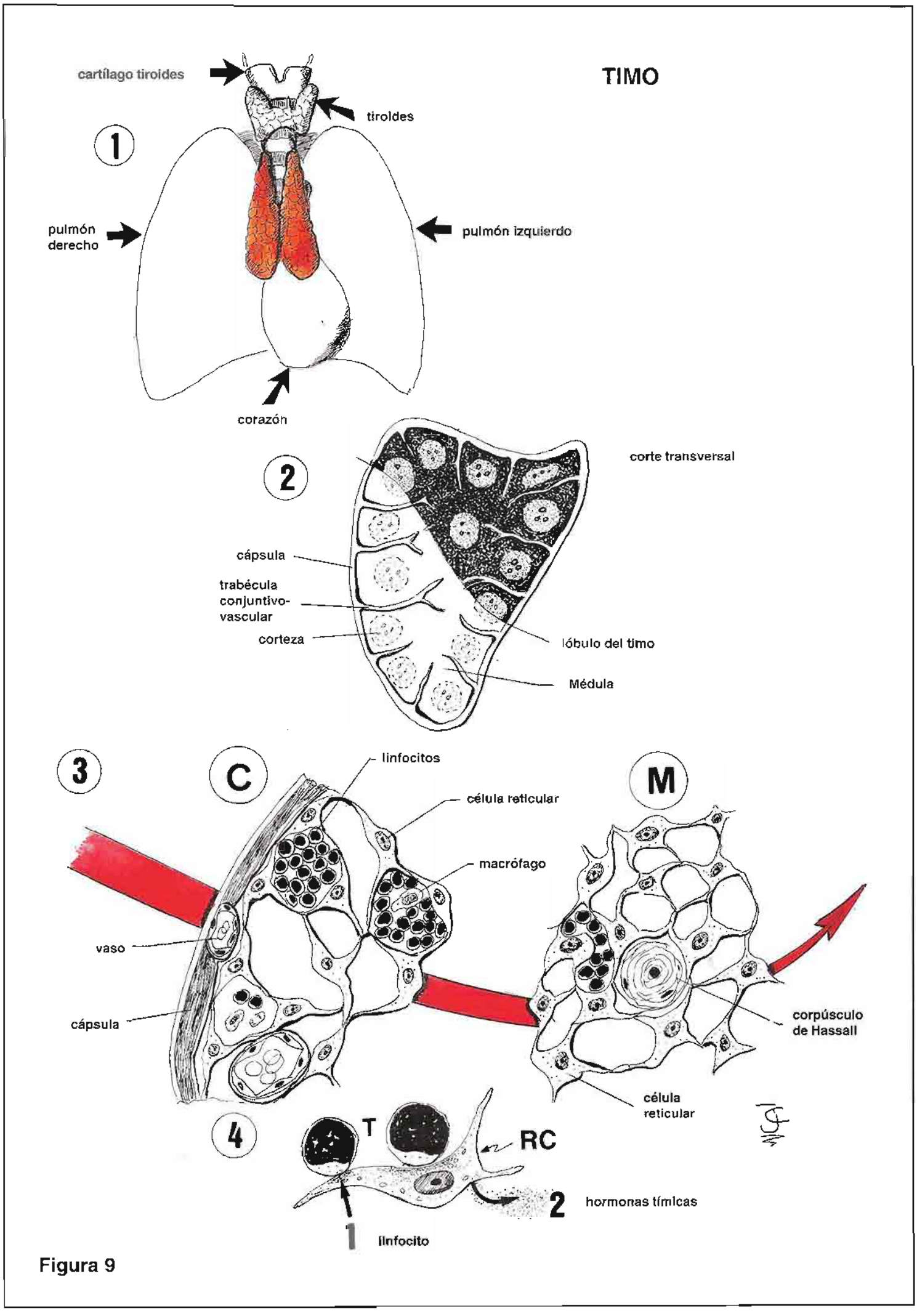

TIMO
1
cartílago tiroides
tiroides
pulmón derecho
pulmón izquierdo
corazón
2
corte transversal
cápsula
trabécula conjuntivo-vascular
corteza
lóbulo del timo
Médula
3
C
linfocitos
célula reticular
macrófago
vaso
cápsula
M
corpúsculo de Hassall
célula reticular
4
T
RC
2
hormonas tímicas
1
linfocito

Figura 9

# 1.4. Organos linfoides

Se distingen por una parte el **timo**, órgano central, y por otra parte los órganos linfoides periféricos: **ganglios linfáticos, bazo, placas de Peyer, amígdalas y apéndice**

## 1.4.1. Timo

El timo es un órgano bilobulado situado en el mediastino anterior, entre los pulmones – **Fig. 9 ❶**. Es lo que los gastrónomos llaman "mollejas de ternera".

Es considerado como una glándula endocrina. Secreta diversas **hormonas tímicas.** Está compuesto por lobulillos, **Fig. 7 ❷** envueltos por una cápsula de tejido conjuntivo que forma trabéculas conjuntivovasculares.Cada lobulillo está situado entre dos trabéculas abiertas hacia el centro. Se compone de una parte central: la **médula** – **❷** y **❸** M, rodeada por una zona periférica: **la corteza** – **❷** y **❸** C. Diseminadas en la médula (M), se encuentran formaciones compuestas de células dispuestas en capas de cebolla: los **corpúsculos de Hassall** – **❸**, característicos del timo. Se desconoce su papel.

**El timo es la verdadera "academia militar" del linfocito.** Los prolinfocitos penetran en el parénquima por los vasos que están totalmente aislados de este parénquima tímico – **❸** C. Los linfocitos atraviesan directamente el endotelio evitando de esta manera que algunos elementos del organismo (por ejemplo,los glóbulos rojos) interfieran en el acondicionamiento de los futuros linfocitos T, con el consiguiente riesgo de producir enfermedades autoinmiunes. Por otra parte, algunos macrófagos protegen contra elementos extraños (microbios, etc.) que podrían entrar en el timo.

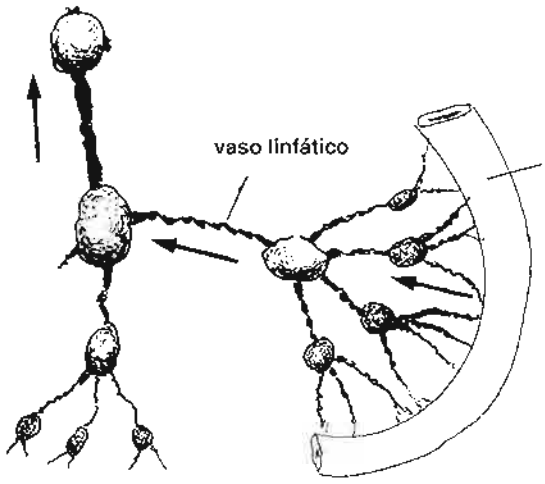
Parece que el elemento determinante del timo es la red de **células reticulares (CR)**, verdadero **tejido llave de la inmunidad** – **❸ ❹**. Esta constituye la trama del órgano. Los timocitos o linfocitos del timo entran en contacto íntimo con estas células que contienen vesículas de glicoproteinas (¿hormonas?). Se asiste también a la multiplicación, diferenciación y al comienzo de la maduración con el **reconocimiento de lo "propio"** (el linfocito maduro no reconoce más que los elementos del cuerpo al que pertenece).

Durante su estancia en el timo aparecen sobre las membranas de los linfocitos cantidad de **receptores** y **Ag de membrana** (marcadores) que permitirán diferenciarlos. Gracias a estos, los linfocitos periféricos pueden reconocer los tejidos y penetrar en ellos.

Parece que del cortex **❸** (C), los linfocitos o timocitos pasan hacia la médula **❸** (M) donde sufren todavía algún perfeccionamiento así como una última y severa criba. Finalmente, sólo un pequeño número de linfocitos T "diplomados" abandonan el timo. A diferencia de la zona medular, la zona cortical es muy sensible a los rayos X y a los corticoides, pero si es destruida, se rehace rapidamente. El timo tiende a atrofiarse progresivamente con la edad, esto es, a partir de los 10–12 años. En este momento todos los órganos periféricos han sido provistos de linfocitos T susceptibles de dividirse y de completar su especialización. Los linfocitos migran constantemente estableciendo las rondas de vigilancia en todo el cuerpo.

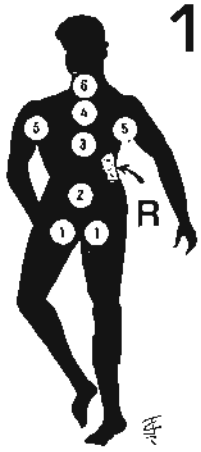
# GANGLIO LINFATICO

1 A



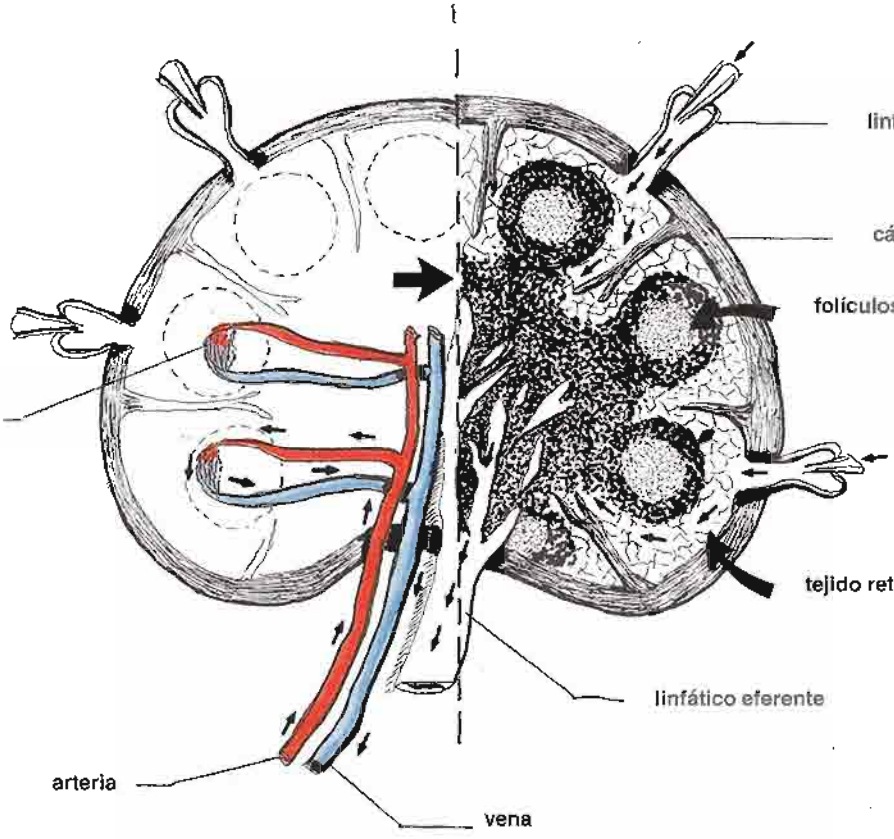

Ejemplo de la cadena de los ganglios entéricos

1 B




Grupos ganglionares

2




3

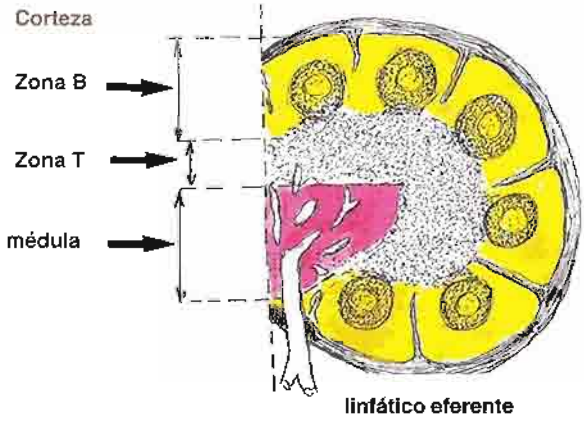



Figura 10

## 1.4.2. Ganglios linfáticos

Los ganglios linfáticos se encuetran en todas las encrucijadas a donde es drenada la linfa proviniente de la periferia – **Fig. 10 B**. Se distingen los grupos ganglionares principales siguientes:

- linfáticos de los miembros inferiores ❶,
- linfáticos de la pelvis ❷,
- linfáticos abdomen ❸,
- linfáticos del tórax ❹,
- linfáticos de los miembros superiores ❺,
- linfáticos de la cabeza y del cuello ❻.

El ganglio – **Fig. 10 ❼**, del volumen de un guisante, está recubierto por una cápsula fibrosa que contiene los folículos linfoides, separados entre sí por prolongaciones de la cápsula. Estos folículos están situados en la parte externa del ganglio. Forman la corteza – **Fig. 10 ❽**, que es donde se desarrollan en su mayoría los linfocitos B. Es la **zona B**, llamada también **zona "timo-independiente"**, ya que los linfocitos que allí se encuentran no han pasado por el timo. Al producirse una estimulación antigénica (por ejemplo, la llegada de microbios por los linfáticos aferentes), el centro de estos folículos, llamado **centro germinativo**, se hipertrofia.

Debajo de la **zona B** se encuentra la **zona T** o **"timo-dependiente"** – **Fig. 10 ❾** – porque está poblada mayoritariamente por linfocitos T.

El fenómeno que consiste en dirigir los linfocitos T y B hacia sus areas respectivas se llama **"fenómeno de homing"**.

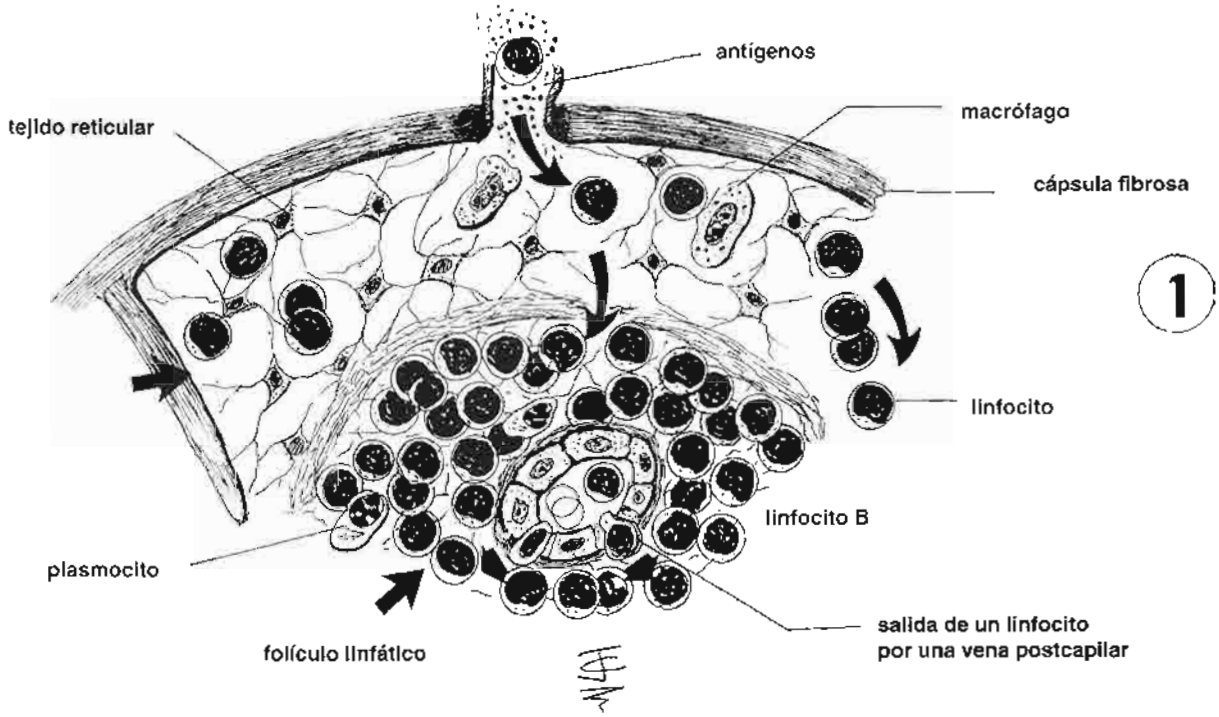
Entre la zona T y el hilio se encuentra la **médula** – **Fig. 10 ❿**

La **Figura 11 ❶** muestra los detalles de la corteza del ganglio. Entre la cápsula y los folículos linfoides hay un **tejido reticular** que actua a modo de filtro para los Ag, los linfocitos y los fagocitos (esencialmente los macrófagos) provenientes de la linfa. No se conocen todos los detalles de estos mecanismos, sobre todo lo concerniente a los linfocitos T. Se sabe que es **principalmente en el ganglio donde son fagocitados los Ag, donde se forman los Ac, se sensibilizan los linfocitos y se multiplican los linfocitos B.**

El ganglio linfático es el lugar de encuentro linfa – sangre – **Fig. 10 ❷**. Tiene dos sistemas circulatorios, uno que trae la linfa de la periferia por los linfáticos aferentes, linfa que atraviesa el ganglio y se enriquece con linfocitos nuevos y sensibilizados. Esta sale a continuación por los linfáticos eferentes localizados a nivel hiliar. El otro circuito esta formado por una arteria – **Fig. 10 ❷** que penetra en el hilio, se ramifica en cada folículo, se transforma en capilares y posteriormente en venas para volver a salir por el hilio.

A nivel de la región de las venas postcapilares – **Fig. 11 ❷**, los linfocitos atraviesan la pared endotelial venosa y migran hacia el parénquima o directamente hacia el tronco linfático eferente, donde se mezclan con los linfocitos nacidos en el ganglio. Hay así pues una circulación continua de linfocitos.

## CORTEZA DEL GANGLIO




## BAZO

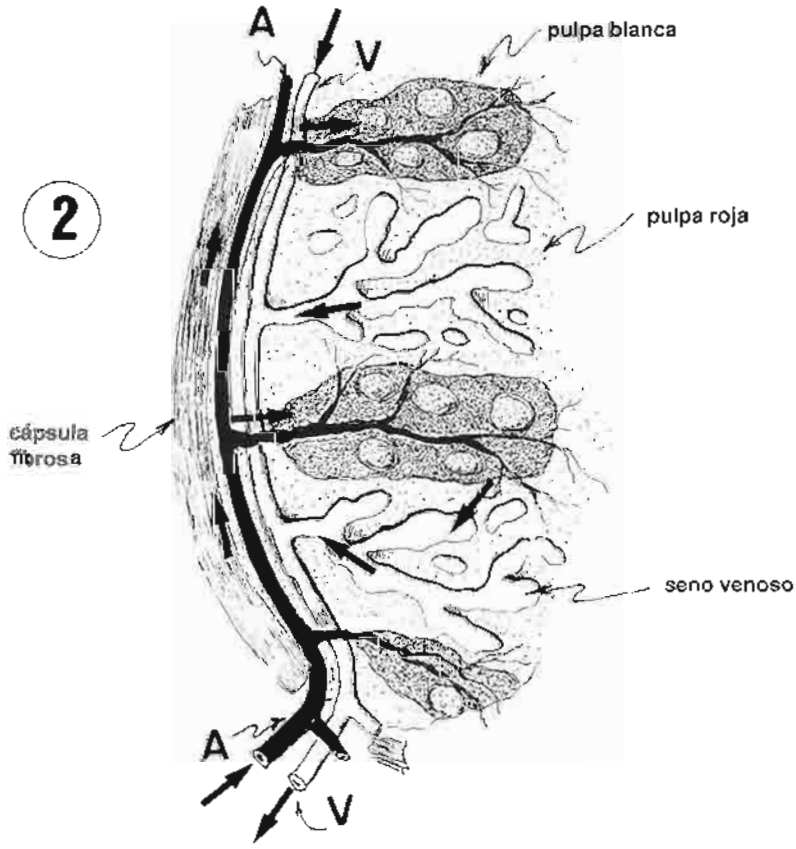



Figura 11

### 1.4.3. Bazo

El bazo (**Figura 11 ❷**) es en cierto modo un gran ganglio linfático situado en shunt con la circulación general. No posee circulación linfática. La sangre entra por la arteria esplénica (A) que se ramifica a nivel de la cápsula fibrosa que recubre el órgano. Las ramificaciones arteriales penetran en las formaciones y en los folículos linfoides periarteriales constituyendo la pulpa blanca. Esta corresponde a la zona B de los ganglios. Los vasos sanguíneos terminan desembocando en la zona reticular (pulpa roja) que contiene numerosos senos venosos y células fagocitarias.

**Anticuerpos y linfocitos inmunocompetentes** son sintetizados tanto en el bazo como en el ganglio.

Recordaremos que además de su papel inmunológico, el bazo asegura la destrucción de los glóbulos rojos viejos.

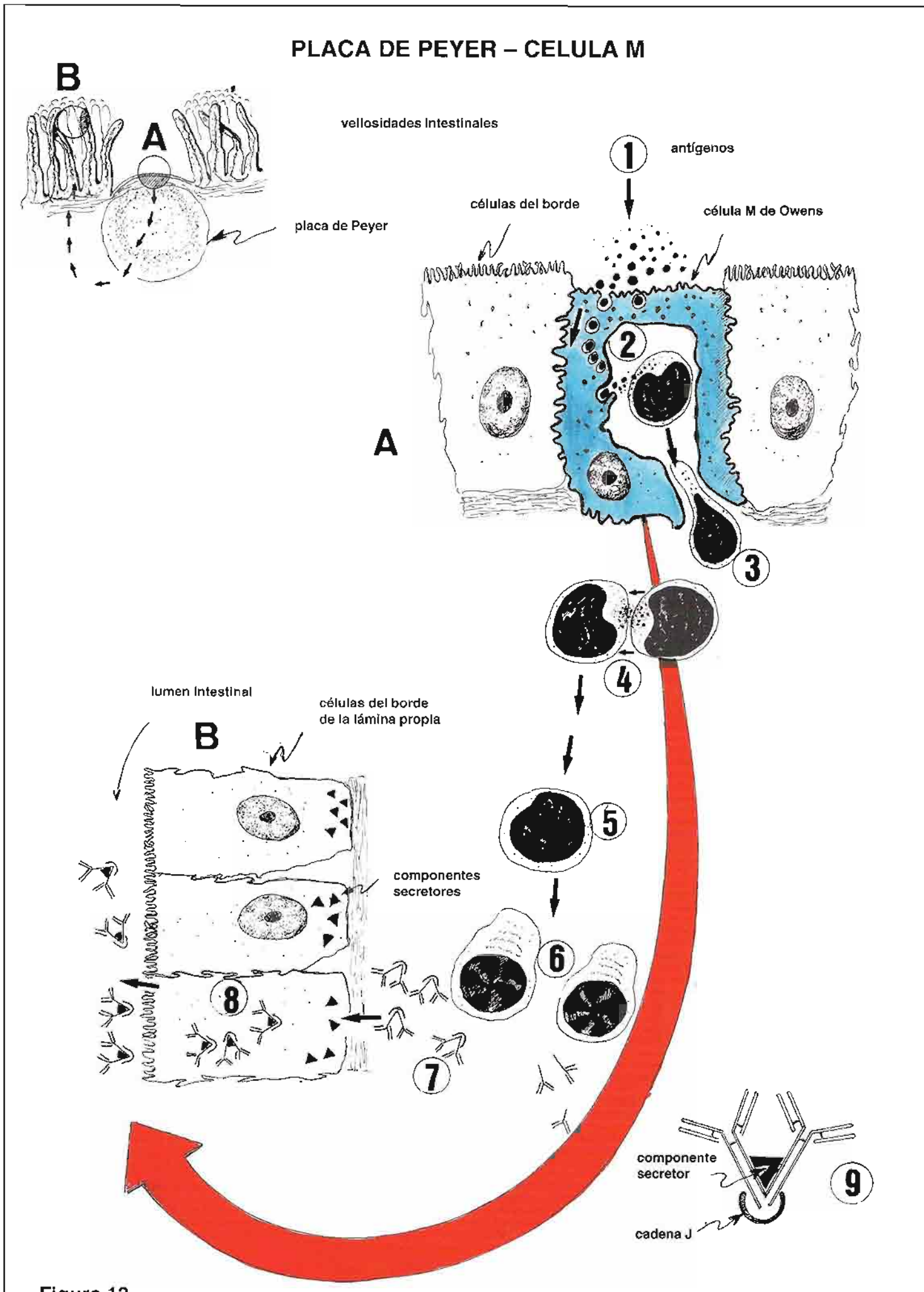

PLACA DE PEYER – CELULA M
B
A
vellosidades intestinales
placa de Peyer
1
antígenos
células del borde
célula M de Owens
2
A
3
4
lumen intestinal
B
células del borde
de la lámina propia
5
componentes
secretores
6
8
7
componente
secretor
9
cadena J

Figura 12

### 1.4.4. Placas de Peyer – Células M – Otras formaciones linfoides

**Las placas de Peyer (Fig. 12)** constituyen en su conjunto un órgano linfoide muy importante que asegura la defensa del intestino delgado. Estas placas, que pueden alcanzar hasta 10 cm. de longitud, están diseminadas en la pared del intestino delgado. Contienen linfocitos T y B, así como un centro geminativo y una zona timo-dependiente. Estas placas tienen un modo de funcionamiento particularmente interesante.

Las placas de Peyer – **Fig. 13** ❶ están localizadas en las vellosidades intestinales (pequeñas formaciones digitiformes que tapizan el intestino).

En la **Figura 12** vemos entre las células bordeantes del intestino, una **célula M (célula de Owens)**. Esta célula se representa vulgarmente en forma de U, con la base dirigida hacia la luz del intestino y los dos brazos dirigidos hacia el interior de la mucosa. En ❶ los antígenos llegan a nivel intestinal. ❷ Son captados por esta célula M, fagocitados y después expulsados hacia el linfocito T que penetra en los brazos de la U. Estos linfocitos son reemplazados continuamente. En ❸, migración de la célula T hacia el centro de la placa de Peyer. En ❹ el linfocito T "informa" al linfocito B. El linfocito B va a recorrer un largo trayecto, en ❺ y en la **Figura 12,** para llegar finalmente a todas las vellosidades intestinales, es decir lejos de la célula M. Una vez en las vellosidades, en la zona llamada "lamina propia", se transforma en plasmocito secretor de IgA ❻. Estas IgA son dímeros ❼, cuyos componentes monoméricos se mantienen unidos por la cadena J ❽. Penetran en la capa de células que bordean el intestino B, se combinan con el "componente secretor" ❾, y atraviesan la mucosa ❿ para desembocar en las secreciones de la luz intestinal. Juegan el papel de **defensoras de las mucosas** (ver inmunoglobulina A).

# CIRCUITO DE LOS LINFOCITOS B SECRETORES DE IgA

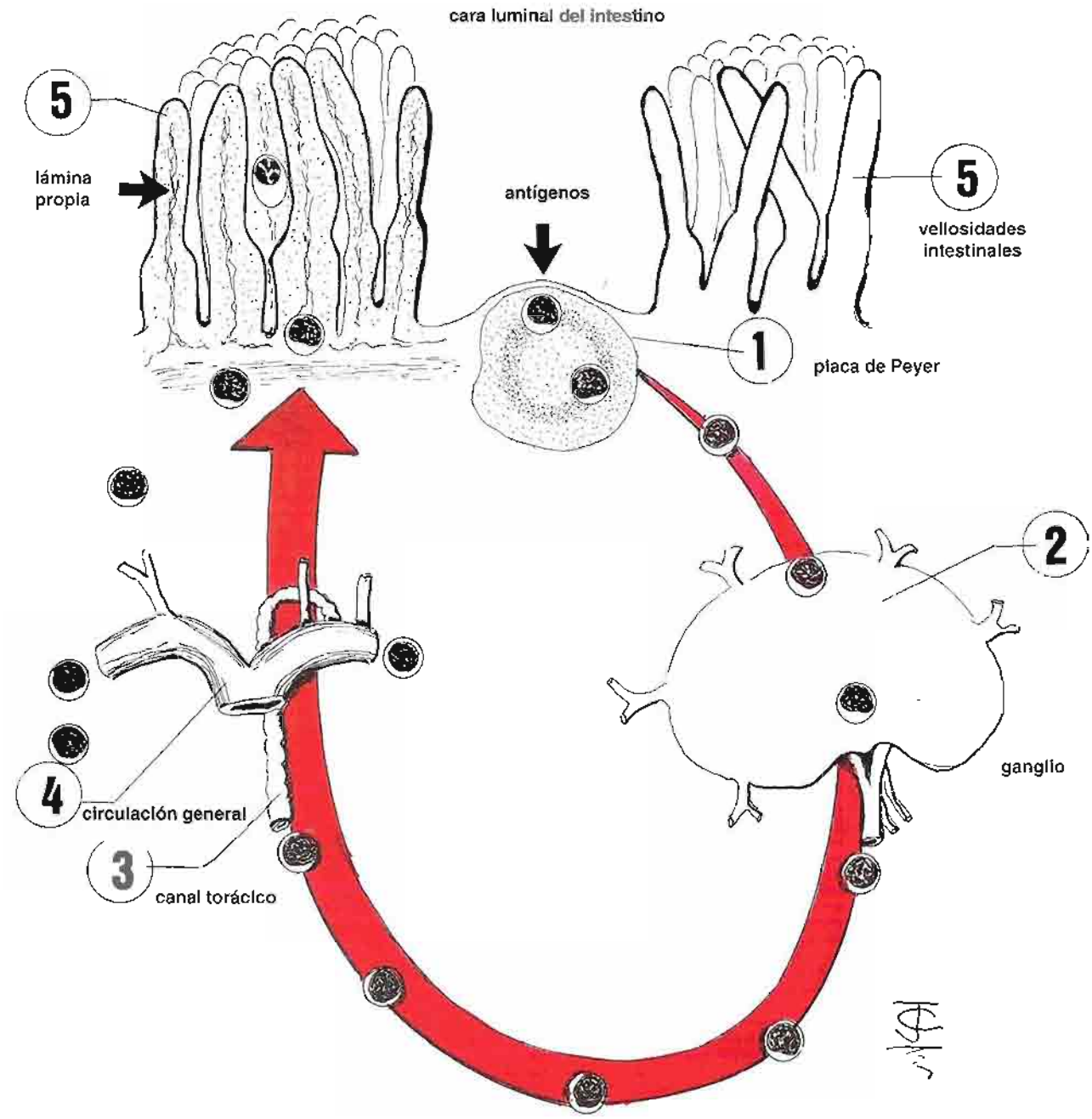



Figura 13

La **Figura 13** nos muestra una visión de conjunto de este mecanismo. En ❶ llegada del antígeno que es capatado por la célula M a nivel de las placas de Peyer. Los linfocitos migran hacia un ganglio próximo correspondiente a la zona de la placa de Peyer ❷. Atraviesan este ganglio después de sufrir diversas transformaciones. A continuación, penetran en el ducto torácico ❸ para ser vertidos a la circulación general ❹. Desde aquí, una parte de estos linfocitos B se dirige hacia los diferentes órganos (genitales, bronquios, etc.) y otra parte hacia las vellosidades intestinales ❺. A este nivel, se transforman en plasmocitos secretores de anticuerpos IgA.

Además de los ganglios linfáticos, del bazo y de las placas de Peyer, señalaremos como órganos linfoides secundarios: las **amígdalas** y el **apéndice** así como numerosos **islotes de linfocitos** diseminados por el organismo.

El sistema de defensa inmunitaría asociada a las mucosas se denomina **MALT** (Mucous Associated Lymphoid Tissue): **BALT** para los bronquios (B = bronchus), **GALT** para el intestino (G = gut) y **SALT** para la piel (S = skin).

# CIRCULACION DE LOS LINFOCITOS

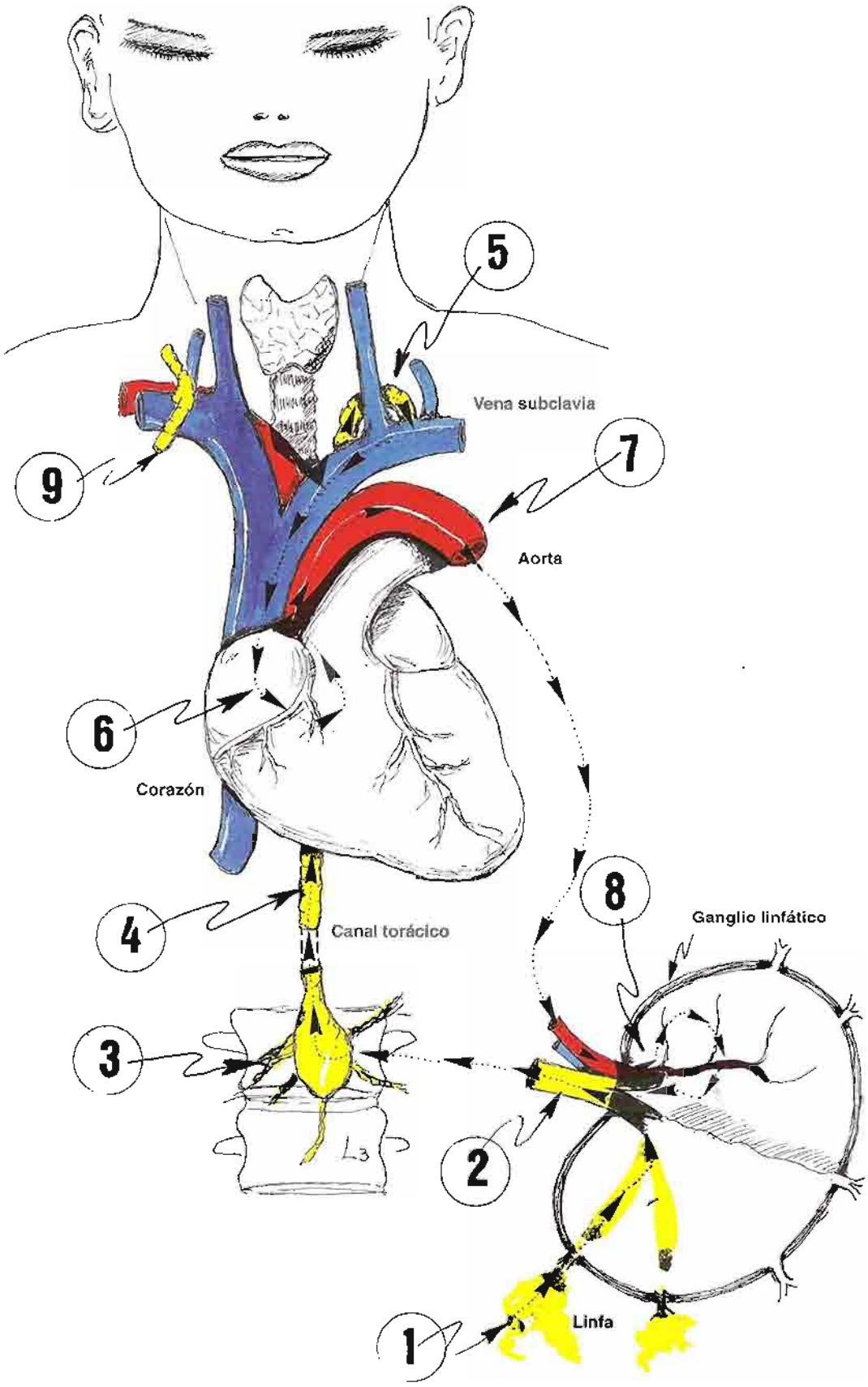



Figura 14

# 1.5 Circulación periférica de los linfocitos a partir de los órganos linfoides

En la **Figura 14**, la linfa viene de la periferia arrastrando linfocitos y antígenos originarios de los diferentes focos locales en los que se desarrolla una reacción inmunológica.

Los linfocitos penetran en el ganglio por el linfático aferente ❶. La linfa, ahora cargada de linfocitos sensibilizados y concentrados en el ganglio, sale por los linfáticos eferentes ❷. Los linfáticos confluyen en la **cisterna de Pecquet** que se encuentra a lo largo de la columna vertebral a nivel lumbar ❸. La linfa sube a partir de aquí por el canal torácico ❹ de donde se vierte a la sangre a nivel de la vena subclavia izquierda ❺. A continuación los linfocitos pasan a la circulación general en el corazón ❻, y hacia la circulación menor para desembocar en la aorta ❼. Desde ahí son repartidos a todo el cuerpo para volver finalmente al ganglio linfático o a otro órgano linfoide ❽. En ❾ la vena linfática grande, punto de afuencía de los vasos linfáticos no tributarios del canal torácico.

La circulación es continua. Los linfocitos que salen hacia los tejidos,para participar en una respuesta inmune, vuelven a la circulación por los linfáticos aferentes y así comienza de nuevo el circuito sin detenerse.

Puede haber anomalías en la circulación que llevarán a una linfocitosis en caso de defecto de la circulación linfática o a una linfopenia por acumulación de linfocitos fuera de la sangre.

# MADURACION Y DIFERENCIACION DE LOS LINFOCITOS B

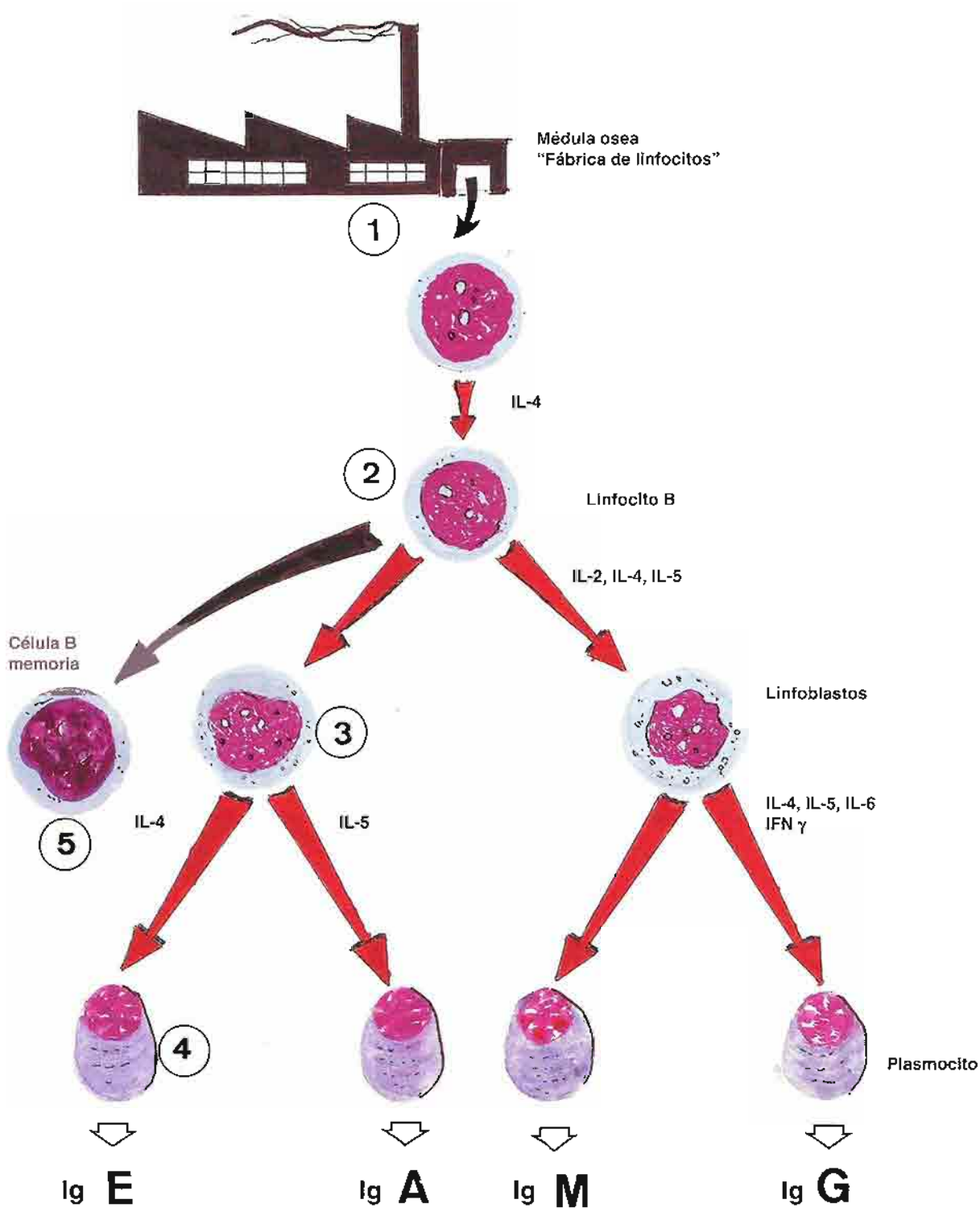



Figura 15

# 1.6 Transformación y colaboración de los linfocitos en los fenómenos activos de la inmunidad

Esta evolución está esquematizada en la **Figura 15** para los linfocitos B y en la **Figura 16** para los linfocitos T.

## 1.6.1. Linfocitos B

El linfocito B (**Figura 15**) nace en la médula osea (B = Bone marrow) ❶, y de ahí emigra a los órganos linfoides ❷. En el hombre parece que adquiere su especificidad en la médula osea, mientras que en los pájaros lo hace en la bolsa de Fabricio. El linfocito T coopera con el B, que bajo el efecto de la estimulación antigénica se transforma en **linfoblasto B** ❸ y posteriormente se diferencia en **plasmocito** ❺ o en **célula memoria** ❹. El plasmocito sintetiza inmunoglobulinas (o anticuerpos o Ig). Cada plasmocito secreta una sóla clase de inmunoglobulina específica, es decir un anticuerpo contra un sólo determinante antigénico – "una célula – un anticuerpo", según la teoría de la **selección clonal de Burnet (Fig. 18)**. La célula memoria almacena las informaciones sobre los antígenos encontrados, informaciones que serán utilizadas cuando se produzca un nuevo encuentro con estos antígenos.

La proliferación y maduración de los linfocitos B hacia plasmocitos, produciendo un tipo determinado de inmunoglobulina IgE, IgA, IgM o IgG, se lleva a cabo fundamentalmente como consecuencia de una señal activadora inicial, que puede ser la unión con el antígeno en presencia de un linfocito helper CD4, acompañado de una u otra citoquina producida por los mismos linfocitos T activados. La presencia de IL-4 es esencial para la diferenciación hacia célula B capaz de producir IgE (**Figura 15**). Una descripción más detallada de los procesos que levan a la diferenciación de los linfocitos B hacia células productoras de IgE aparece a continuación (**Fig. 29**).

# DIFERENCIACION DE LOS LINFOCITOS T

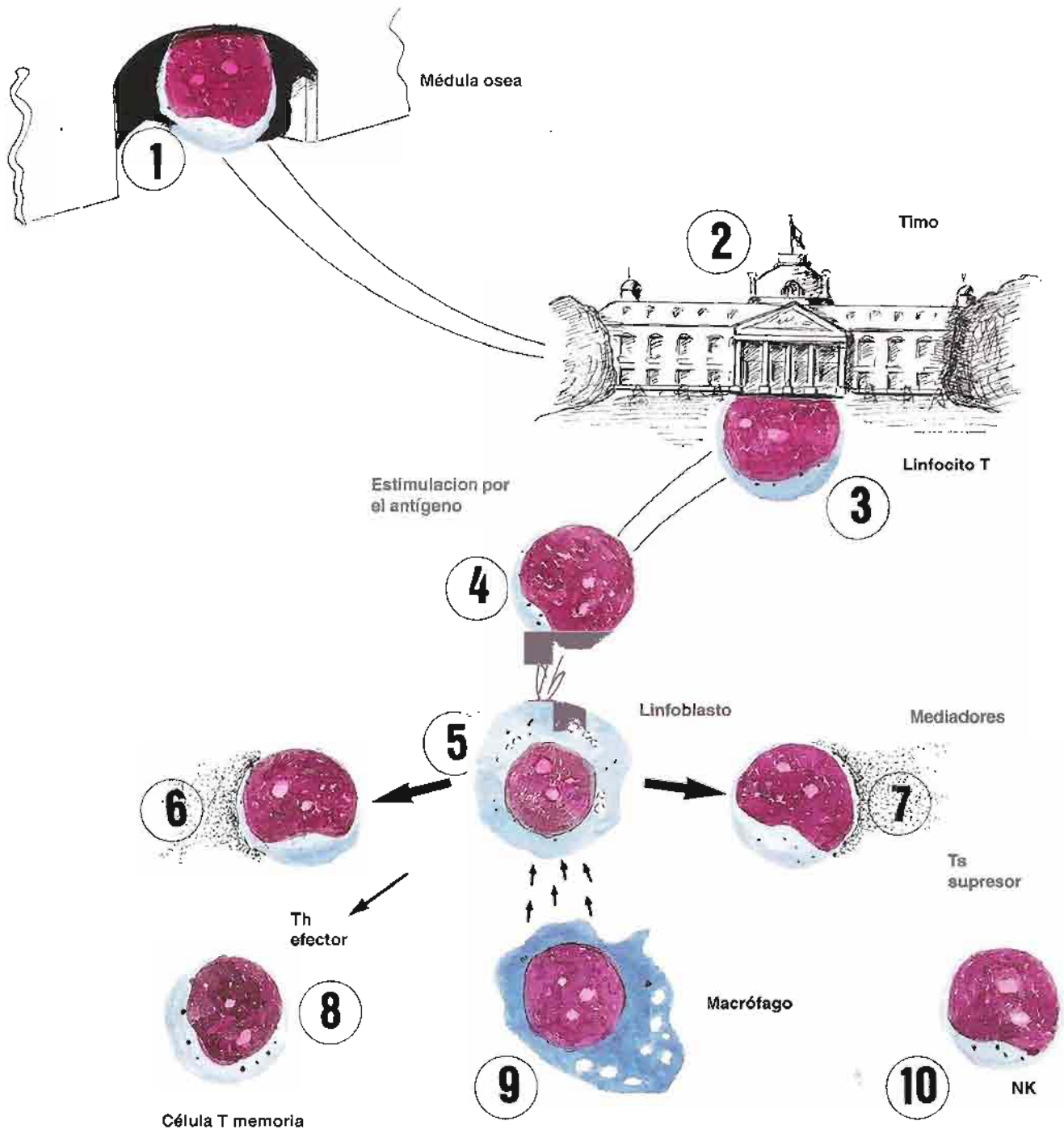



Figura 16

## 1.6.2. Linfocitos T

El linfocito T sale de la médula osea (Fig. **16**) ❶. En este momento no está especializado. Debe pasar por el **timo** ("academia militar") ❷. De allí sale como **linfocito** T (T = timo-dependiente). Los linfocitos T estimulados ❹ por el antígeno presentado por un macrófago se diferencian en linfoblastos ❺. Cada linfoblasto puede dar lugar a un linfocito activado ❻ y ❼ o a una célula memoria ❽. Durante el periodo de estimulación, está en contacto directo con el monocito o el macrófago ❾ que le presenta los antígenos y le transmite toda clase de informaciones necesarias para estimular su crecimiento. Los linfocitos T activados secretan mediadores (inteleuquinas). Algunos linfocitos activos son linfocitos Th (helper) ❻ y otros son linfocitos Ts (supresores) ❼. El linfocito T está considerado como "el comandante en jefe" de las células de la inmunidad. En ⓫: célula **NK "natural killer"** que representa a un tipo especial de linfocitos que son citotóxicos para las células extrañas.

La **Figura 17** resume las **Figuras 15** y **16** y muestra la colaboración entre los linfocitos T y los linfocitos B.

- ❶: Médula osea "cuna" de los linfocitos.
- ❷: Primera etapa: prolinfocito.
- ❸: Linfocito B.
- ❹: Linfocito B estimulado por las inteleuquinas.
- ❺: Diferenciación del linfocito B en plasmocito, secretor de inmunoglobulinas. Este mecamismo está "ordenado" por los linfocitos T.
- ❻: Timo acondicionando a los linfocitos T.
- ❼: Macrófago captando antígenos y presentandolos bajo forma degradada a los linfocitos T.
- ❽: Diferenciación de los linfocitos T en ❾ linfocitos Th (efectores) y ❿ linfocitos Ts (supresores). Los linfocitos especializados secretan múltiples mediadores (IL y linfoquinas) regulando el extraordinario mecanismo de defensa que aparece muy esquematizado en la **Figura 17**.

La **Figura 18** muestra la producción de una clona de linfocitos B productora de un sólo anticuerpo. La teoría clonal se aplica también a los linfocitos T y a su receptor (TCR) específico para el antígeno (**Fig. 21**).

# COLABORACIÓN DE LOS LINFOCITOS T Y B

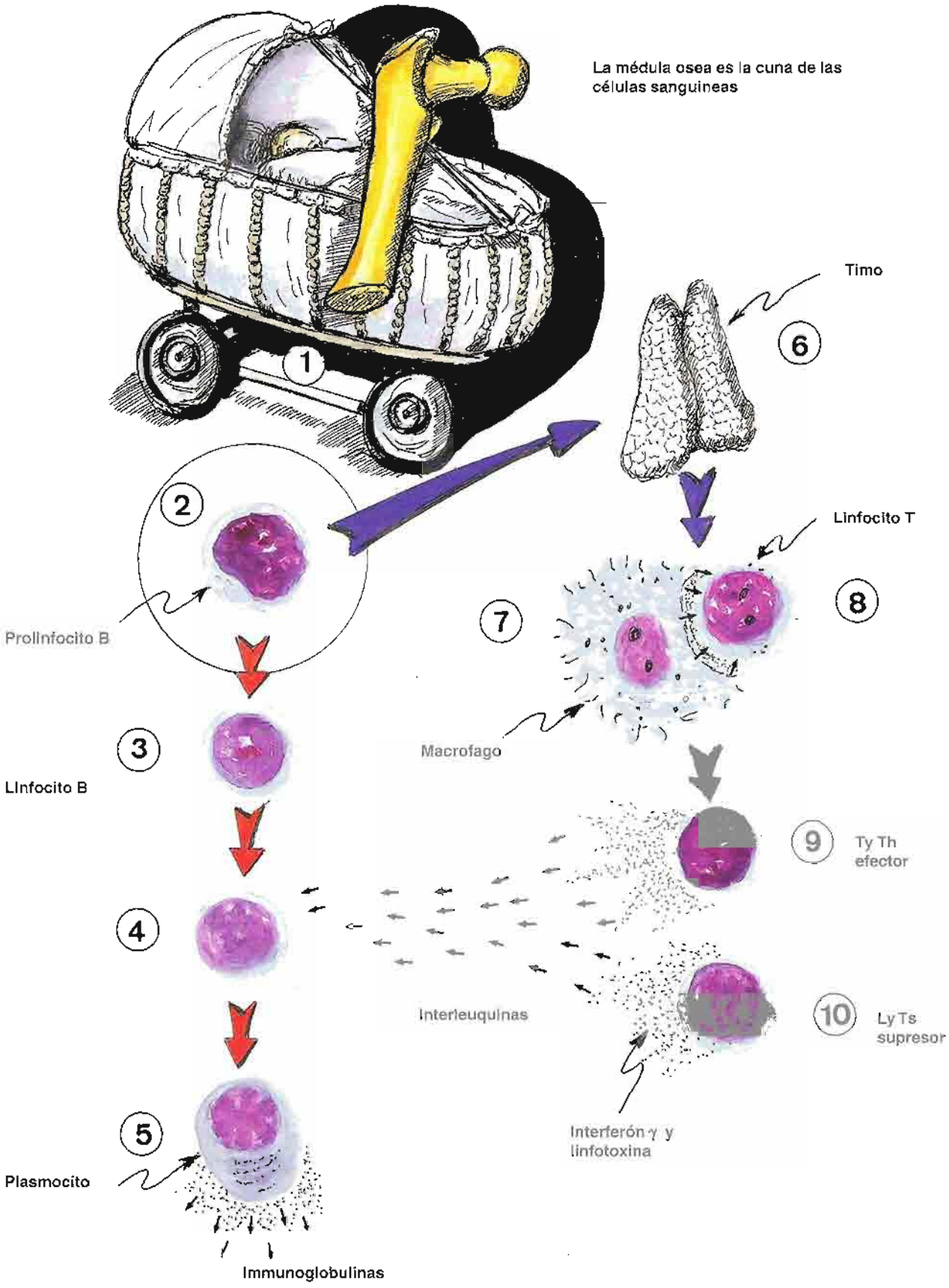



Figura 17

# SELECCION CLONAL DE BURNET

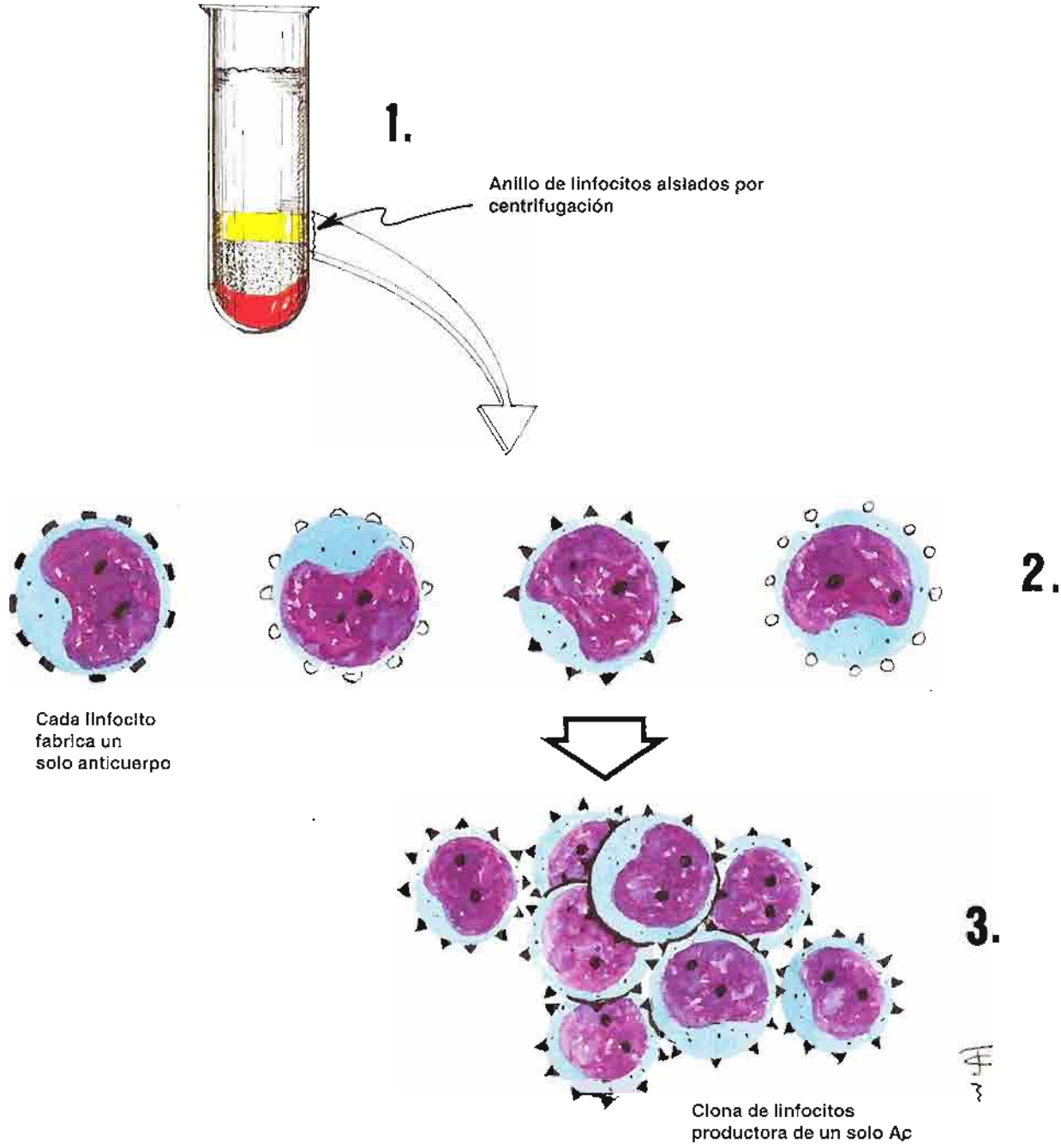



Figura 18

# EL MACROFAGO

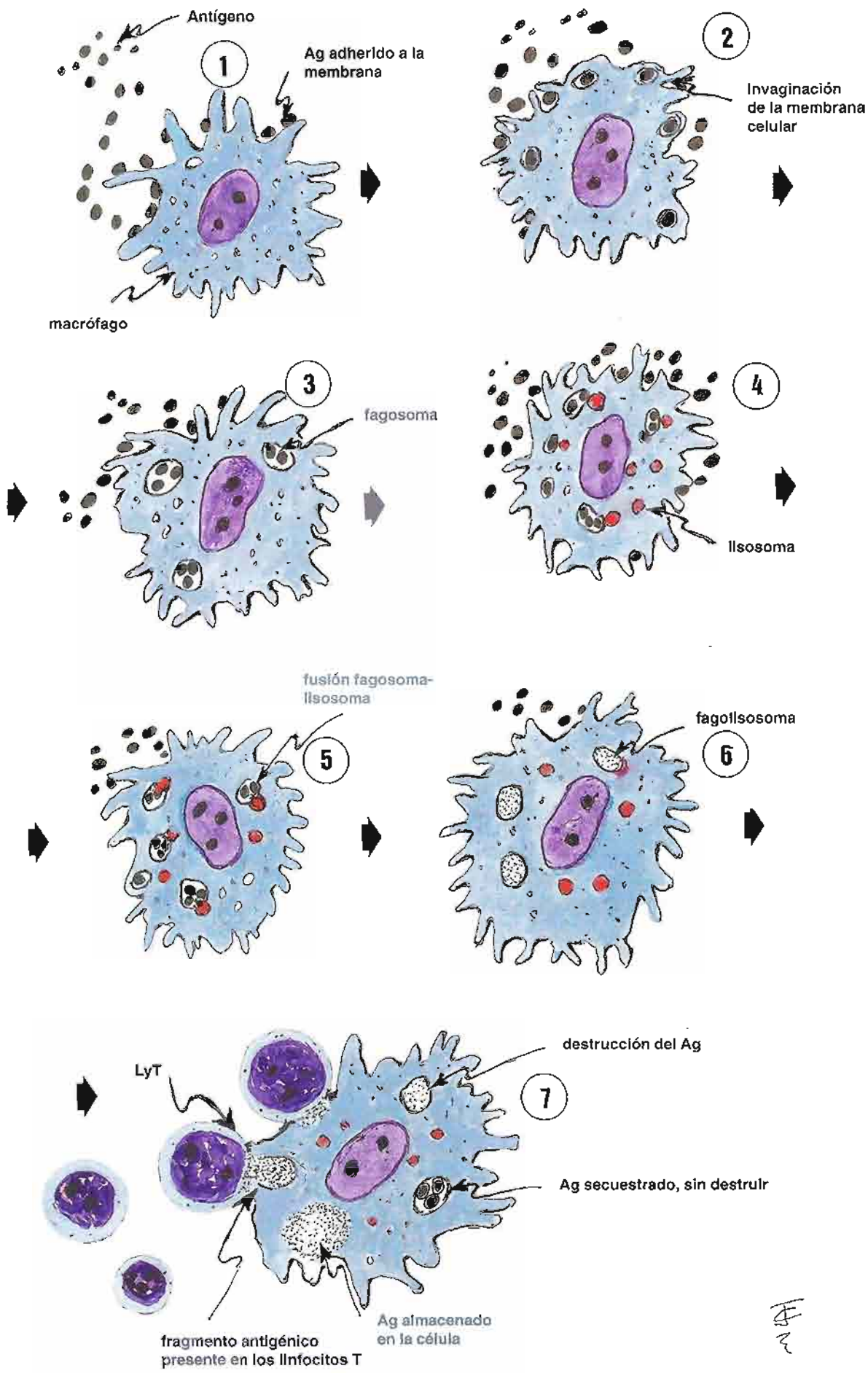



Figura 19

# 1.7. El papel de los macrófagos y su equivalente en la sangre: los monocitos – presentación del antígeno

Los macrófagos y los monocitos son células móviles gracias a sus movimientos ameboideos. Dos tipos particulares de células están emparentadas con los macrófagos: las **células M** de las placas de Peyer y **las células de Langerhans** de la piel.

- **Células M:** han sido descritas junto con los órganos linfoifes **(Fig. 12)**.
- **Células de Langerhans (Fig. 3, ❶❷)**: se trata de células dendríticas (es decir que tienen prolongaciones digitiformes) que contienen unos gránulos característicos, los **granulos de Birbeck**. Se encuentran en la dermis y epidermis y son responsables de la transmisión del mensaje antigénico a los linfocitos T, probablemente por contacto directo. Segregan mediadores susceptibles de atraer a los linfocitos. Por medio de su prolongaciones dendríticas, forman una especie de red que permite captar a los antígenos que atraviesan la piel (en general moléculas de pequeño tamaño). Tienen capacidad de pinocitosis y, en menor medida, de fagocitosis. Tienen una gran afinidad para los alergenos y haptenos de contacto, como por ejemplo el niquel y el cromo y juegan probablemente un papel importante en el eczema de contacto. Poseen así mismo receptores para la IgE. Una vez estimuladas por el contacto con alergenos específicos para estas IgE (por ejemplo ácaros, alergenos alimentarios), las células de Langerhans producen mediadores inflamatorios y pueden de esta manera originar lesiones eczematosas mediadas por la IgE, como en el ezema atópico.

Los macrófagos están dotados de un gran poder fagocitario y juegan un papel importante en la defensa del organismo. Además, aseguran la síntesis de numerosas sustancias como enzimas lisosómicos, interferón y complemento. Colaboran estrechamente, como se verá, con los linfocitos. Poseen numerosos receptores de membrana (marcadores): para Fc, C3, etc.

Los macrófagos **(Fig. 19)** pertenecen al sistema llamado "**sistema macrofágico**" (antiguamente "SRE", sistema retículoendotelial) que agrupa:

a. los **macrófagos circulantes**: monocitos de la sangre, macrófagos de los alveolos pulmonares, macrófagos del peritoneo y de la pleura, etc.
b. los **macrófagos fijos** llamados "**histiocitos**" **(Fig. 3)**, tales como las células de Kupffer del hígado, macrófagos de los alveolos pulmonares, de los senos esplénicos, de los senos de los ganglios linfáticos, de la médula, las células microgliales del sistema nervioso central, de la suprarrenal y de la hipófisis.

El macrófago capta el antígeno (Ag) nada más penetrar en el órganismo y lo digiere en pequeños fragmentos que se vuelven inmunógenos al expresarse sobre la membrana del macrófago **(Fig. 19)** y son presentados a los linfocitos T.

**Así pues el macrófago presenta el antígeno al linfocito T** después de digerirlo y transformarlo. Además, producen mediadores que activan al linfocito: interleuquinas y prostaglandinas.

En el macrófago encontramos formaciones llamadas **lisosomas**, verdaderos miniestómagos que contienen enzimas muy potentes capaces de digerir las sustancias más variadas. Esta digestión se produce bien en beneficio de la propia célula, bien para destruir elementos fagocitados, o para transformar al antígeno y hacerlo accesible al linfocito. Ciertas linfoquinas provinientes del linfocito T activado (por ejemplo interferón $\gamma$) pueden activar al macrófago.

En la **Figura 19**, aparecen en ❶ los antígenos captados por el macrófago, siendo facilitado este contacto por sus movimientos ameboides. El antígeno se adhiere a la membrana del macrófago gracias a la activación del complemento por fijación de C3b sobre el antígeno o bien cuando este ha fijado un anticuerpo específico uniendose por el

# OPSONIZACION

MACROFAGO VISTO AL MICROSCOPIO ELECTRONICO

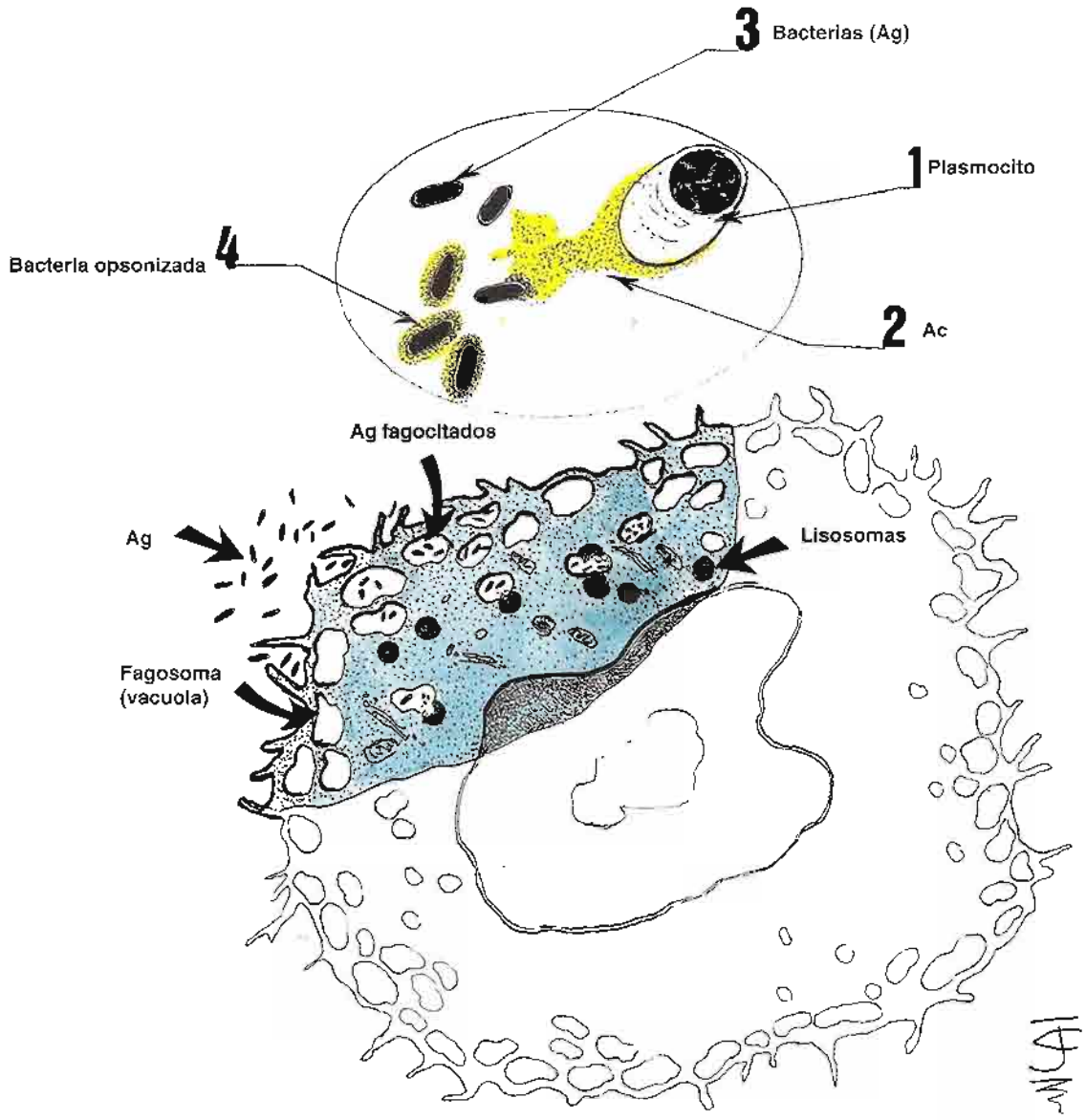



Figura 20

fragmento Fc al fagocito (proceso de **opsonización**) **(Figura 20)**. Este, **Fig. 19 ❷**, emite pseudópodos que engloban al antígeno. En **❸**, el antígeno queda englobado en una vesícula llamada **fagosoma**. En **❹** los fagosomas entran en contacto con los **lisosomas**. En **❺** y **❻** lisosomas y fagosomas se fusionan dando lugar a los **fagolisosomas** y el antígeno es digerido. En **❼** los posibles destinos de este antígeno: bien es almacenado en la célula como producto metabólico, bien es presentado bajo forma de péptido por los antígenos de histocompatibilidad **(Fig. 21)** y puesto en contacto con los linfocitos, bien es secuestrado en el interior de la célula si la digestión es imposible (como en el caso de los bacilos tuberculosos cuya cápsula cérea protege al microbio), o bien es simplemente destruido.

**Figura 20:** el proceso de opsonización y de fagocitosis de los antígenos por el macrófago, vistos al microscopio electrónico.

Los macrófagos tienen así pues **dos papeles esenciales:**

1. Atracción y digestión del antígeno.
2. Presentación de fragmentos del antígeno a los linfocitos T.

## MECANISMO DE PRESENTACION DE FRAGMENTOS PEPTIDICOS DEL Ag LIGADOS A MOLECULAS DE CMH II

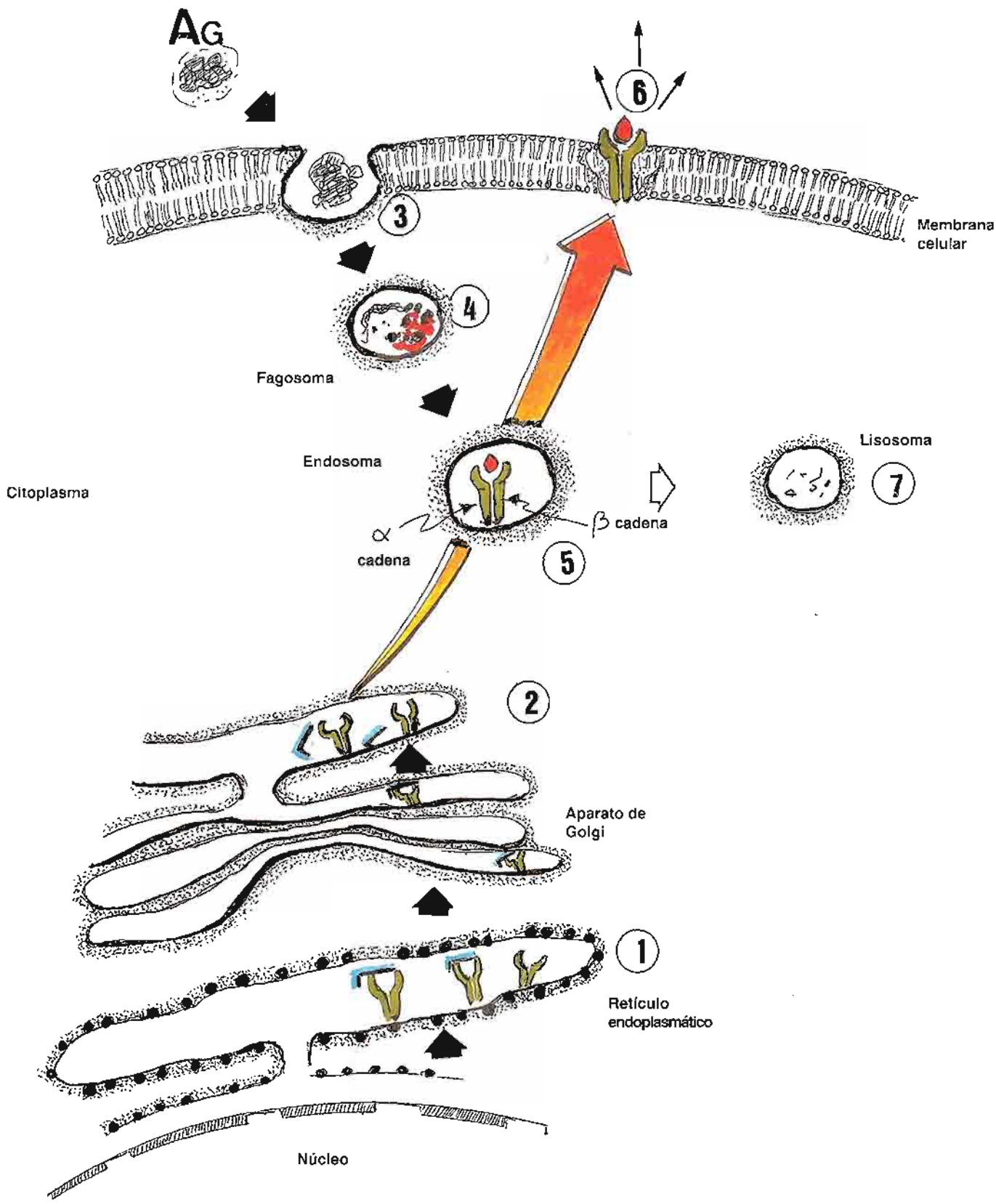



Figura 21A

## PRESENTACION DEL Ag POR EL MACROFAGO Y ESTIMULACION DEL LINFOCITO T

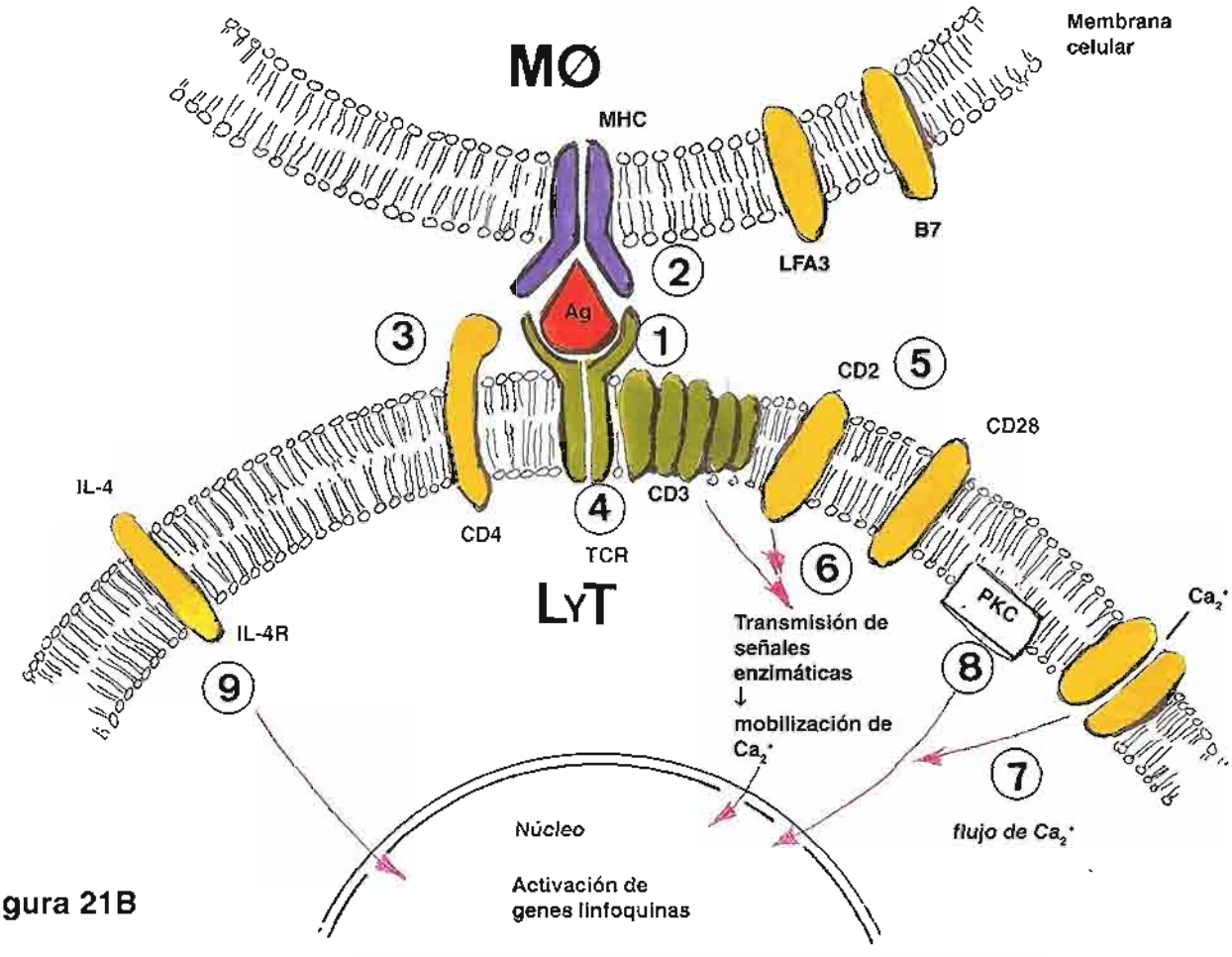



Figura 21B

**Figura 21 A**: A escala molecular, la presentación del fragmento peptídico del antígeno, después de la digestión por el macrófago, se hace por mediación del antígeno de histocompatibilidad CMH. Este proceso se desarrolla de la manera siguiente: en ❶, las dos cadenas α y β de una molécula de CMH de clase II, así como una cadena protectora L son sintetizadas en el réticulo endoplasmático. Estas moléculas pasan al aparato de Golgi ❷ en donde la cadena protectora L es eliminada. El antígeno fagocitado por el macrófago ❸ es digerido en los fagosomas dando lugar a péptidos ❹ que se unen con moléculas de CMH en un endosoma ❺. El complejo peptido antigénico-molecula CMH es a continuación exprimido sobre la mebrana célular ❻, mientras que otros fragmentos del antígeno no utlizados son finalmente digeridos en los lisosomas ❼.

**Figura 21 B**: El elemento de reconocimiento específico, es decir el receptor del linfocito T (TCR), está compuesto por dos cadenas α y β ❶. Está asociado a una serie de moléculas comprendidas bajo la denominación de CD3, las cuales están así mismo asociadas a enzimas tales como la tirosínquinasa y proteinquinasa C ❽ que juegan un papel decisivo en la transducción intracélular de señales de activación, así como en la activación intranuclear de los genes de la célula. Una cascada de lípidos de membrana (PIP2, IP3, DG) ❽ y un flujo de calcio ❼ participan en la trasmisión de señales. Así mismo, en la activación de las células T están implicadas tanto la interacción de moléculas coestimulantes, tales como CD4 ❸ y MHC ❷ o CD2 ❺ y ILFA3, como la interacción de ciertas citoquinas, tales como IL-2 e IL-4 ❾ con sus propios receptores.

Para que el macrófago sea atraido por el antígeno este último debe ser **"opsonizado"**, es decir rodeado de un anticuerpo específico que será facilmente fijado por el macrófago, por medio de sus receptores para el fragmento Fc de los anticuerpos **(Fig. 20)**.

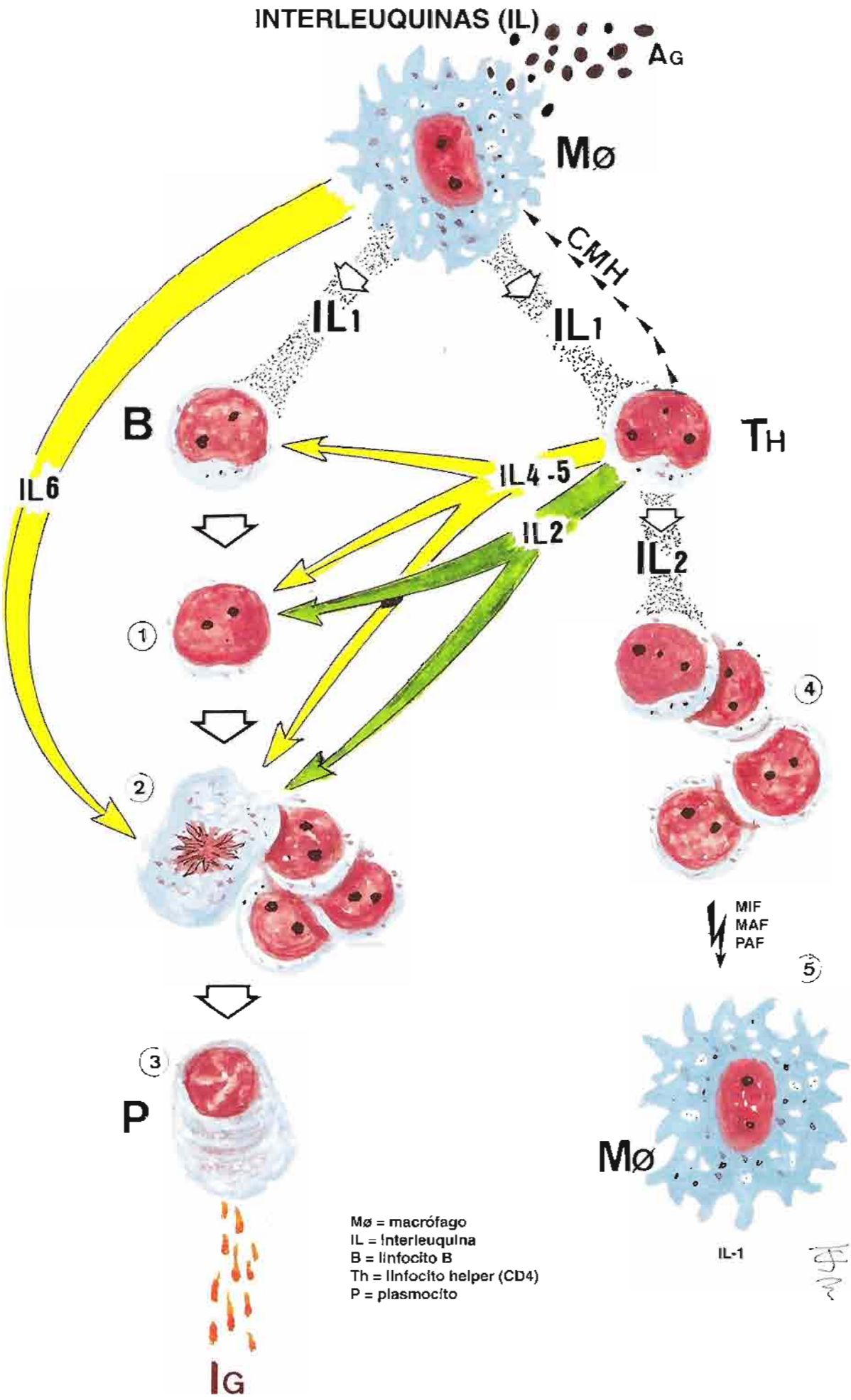

INTERLEUQUINAS (IL)
AG
MØ
CMH
IL1
IL1
B
TH
IL6
IL4 -5
IL2
IL2
1
2
3
4
5
MIF
MAF
PAF
P
MØ
IL-1
IG
Mø = macrófago
IL = Interleuquina
B = linfocito B
Th = linfocito helper (CD4)
P = plasmocito

Figura 22A

# 1.8. Mediadores células solubles o citoquinas

Se agrupa bajo el nombre de **citoquinas** al conjunto de mediadores solubles de origen célular. No se trata de Ac,sino de sustancias liberadas como consecuencia de la activación de las células de la inflamación por diversos estímulos (por ejemplo otras citoquinas). Hablaremos de **linfoquinas** o de **monoquinas**, dependiendo de si la célula que las produce pertenece al sistema linfocitario o monocitario.

Entre las linfoquinas, algunas juegan un papel importante en la activación y diferenciación de los linfocitos **T** y **B** (**Figura 22 A**): estas son las **interleuquinas** (IL). Algunas constituyen un factor de crecimiento indispensable para asegurar la supervivencía de los cultivos de linfocitos, otras son indispensables para el desarrollo de ciertas funciones. Una vez que los monocitos o macrófagos fijos o circulantes han sido estimulados por un Ag o por un mitógeno (por ejemplo PHA) producen la interleuquina 1 (IL-1). Solamente los linfocitos que reconocen el macrófago, colaboran con ellos. Reconocen en los macrófagos un antígeno de superficie que es una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH).

La **Figura 22 A** esquematiza el papel que juegan las interleuquinas (IL) en la diferenciación y proliferación de los linfocitos.

La primera etapa, encuentro entre macrófago-linfocito T, es la fase de estimulación. Aquí se prepara el linfocito T para responder al antígeno o a los mediadores.

Bajo el efecto del Ag (o de sustancias mitógenas), el linfocito Th estimulado por la **IL-1** produce interleuquina 2. Esta **IL-2** provoca la proliferación de linfocitos T (fase de proliferación ❹). Los linfocitos por su parte, producen linfoquinas (MIF, MAF, PAF, etc.) que estimulan al macrófago ❺ en su lucha contra los microbios o contra otros Ag. El linfocito puede también estimular al macrófago para que produzca IL-1. La cortisona y las prostaglandinas como la PGE2 inhiben la produccion de IL-2.

Ciertos linfocitos T (Th2) producen **IL-4** e **IL-5** que estimulan las diferentes etapas de la producción de linfocitos B. La IL-2 puede también estimular a los linfocitos B. Los macrófagos producen tambien IL-6 que estimula a los linfocitos B.

La lista de las interleuquinas no se acaba aquí, ya que se han descrito también la **IL-3** (producida por los linfocitos T, que estimula la médula osea así como otras células), la **IL-4** (producida por los linfocitos así como por los mastocitos y basófilos activos, que estimula los linfocitos T y B), la **IL-6** (producida por los monocitos, que estimula a los neutrófilos), la **IL-9, 10, 11, 12 y 13**. Con seguridad aparecerán otras.

**Figura 22 A:** Mø: Macrófago. IL: interleuquina. B: Linfocitos B. Th: linfocitos helper (CD4). ❶ linfocito B estimulado y su división ❷; P = plasmocito ❸; mutiplicación del lifocito T ❹; estimulación del macrófago ❺.

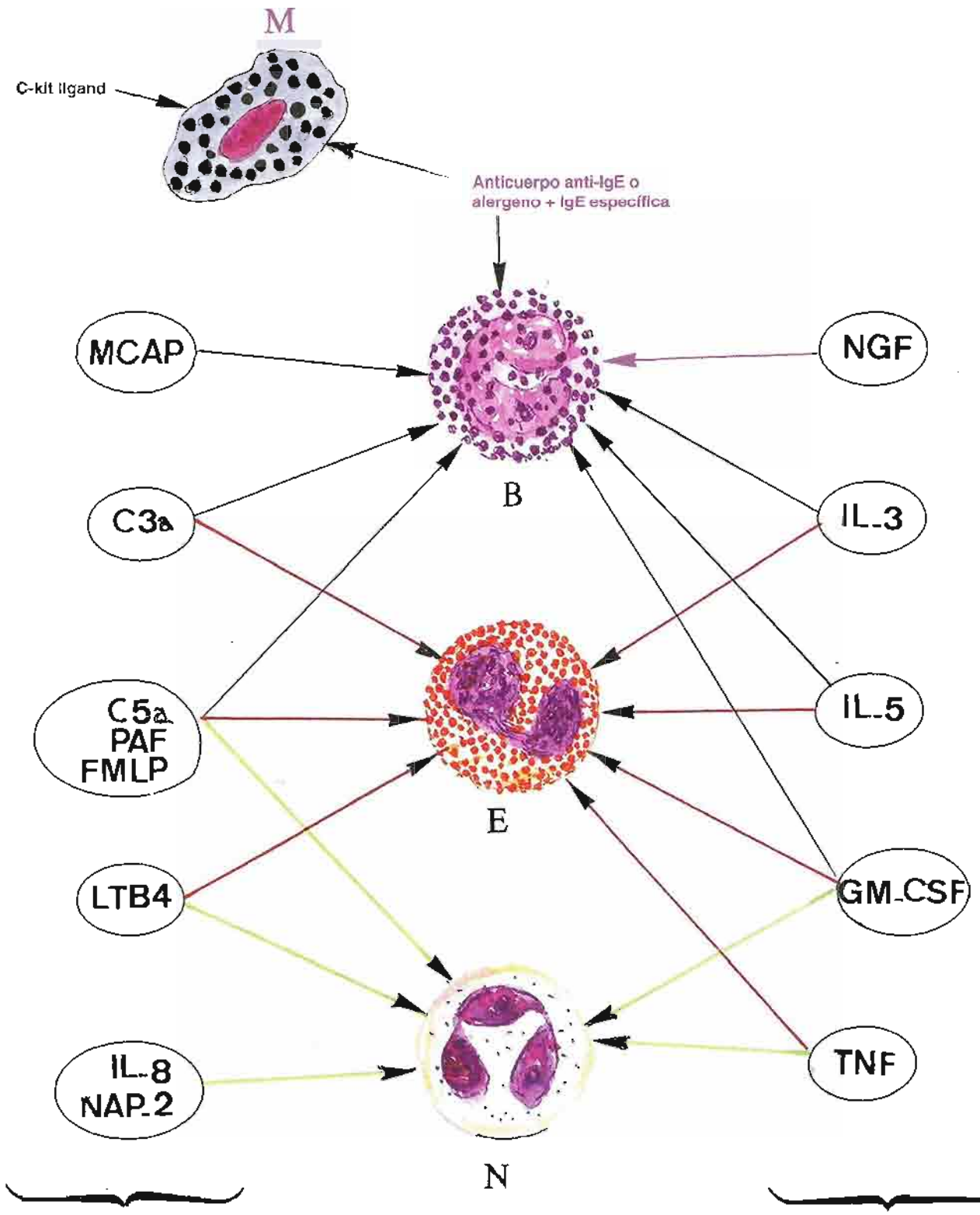
Otras dos citoquinas juegan también un papel considerable: el TNF y el Interferón gamma.

El **TNF** (Tumor Necrosis Factor) o **caquectina** es producido por los monocitos y los macrófagos activados. Es un inmunomodulador (acción sobre la citotoxicidad de los macrófagos, lisis de las células cancerosas, estimulación de los neutrófilos).

El **interferón** $\gamma$, es producido por los linfocitos T activados por un antígeno o un mitógeno. Controlado en parte por la IL-1 y la IL-2, regula diferentes funciones inmunológicas de los macrófagos y estimula la actividad de ciertos linfocitos B (producción de IgG) pero también puede inhibir la actividad de los linfocitos B productores de IgE.

Así pues,las citoquinas ejercen acciones diversas y muy importantes sobre **la maduración y diferenciación de las células del sistema inmune**.

# CITOQUINAS




B. Factores desencadenantes de la reacción celular o mediadores

A. Factores modificantes de la respuesta de las células efectoras (factores condicionantes) o mediadores

B: basófilo
E: eosinófilo
N: neutrófilo
M: mastocito

Figura 22B

**Figura 22 B**: Otro tipo de acción muy importante de las citoquinas es su **capacidad de modificar la respuesta de las células inflamatorias ("priming") o de desencadenar la producción/liberación de mediadores inflamatorios** (ver también **Fig. 48**).

Un primer tipo de citoquinas (**Fig. 22B (A)**) aumenta la respuesta de las diversas células sanguíneas, pero en principio no la desencadena. Estas citoquinas son factores que **condicionan la respuesta.** Algunas linfoquinas, tales como GM-CSF, actuan sobre diversos tipos de células como neutrófilos, eosinófilos o basófilos, mientras que otras como IL-3 o IL-5, tienen un campo de acción más restringido. Los mastocitos humanos parecen no reaccionar más que a un tipo de citoquina llamada "Stem cell factor" o **"c-kit ligand".** La base física de estas especificidades de acción aparentes, viene dada por los receptores específicos que poseen los diferentes tipos de células para cada citoquina.

Un segundo tipo de citoquinas (**Fig. 22B, (B)**) tiene la capacidad de activar directamente y de desencadenar la producción o la liberación de mediadores. Estos factores, producidos por los linfocitos T y los macrófagos activos se denominan a veces globalmente **factores "histamino-liberadores".** Contribuyen a la fase tardía de la reacción anafiláctica (**Fig. 48**) y a la cronificación de la reacción alérgica. Hay que señalar que la capaciadad de desencadenar la liberación de mediadores no está limitada a ciertas citoquinas. Los agentes desencadenantes ("triggers") comprenden tanto los anticuerpos IgE específicos, los fragmentos del complemento C3a y C5a, otros mediadores (PAF, LTB4) así como otras sustancias diversas (FMLP, opiaceos, péptidos básicos, etc.). Estos son agentes desencadenantes no específicos, que están frecuentemente implicados en las **llamadas reacciones pseudoalérgicas**, es decir no desencadenadas por un alergeno específico, pero sin embargo liberan los mismos mediadores y causan los mismos síntomas que la reacción alérgica clásica dependiente de IgE.

# INMUNOGLOBULINAS

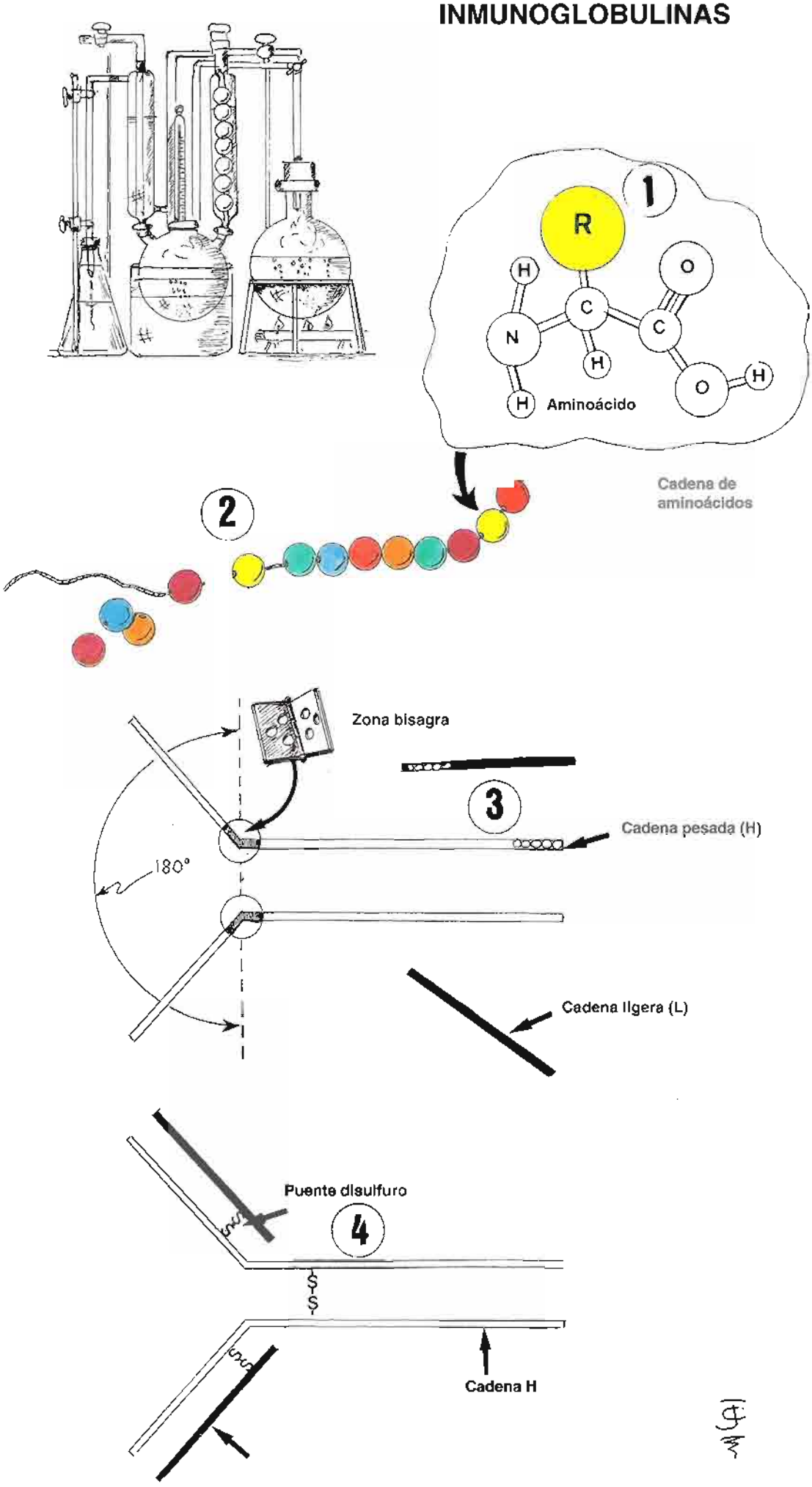



Figura 23

# 1.9. Inmunoglobulinas

El término **inmunoglobulina** o **Ig** o **anticuerpo (Ac)** se utiliza indistintamente. Todos los anticuerpos son inmunoglobulinas pero todas las inmunoglobulinas no son forzosamente anticuerpos funcionales

## 1.9.1. Plasmocitos

Después de la estimulación antigénica, los **linfocitos B** se transforman en **plasmocitos**, células de núcleo excéntrico, cromatina abundante en forma de "radios de rueda" y citoplasma fuertemente basófilo.

**Los plasmocitos sintetizan masivamente inmunoglobulinas o anticuerpos** y los vierten al suero (es decir al líquido sanguineo con exclusión de las células).

Los anticuerpos son **específicos**, es decir que corresponden al antígeno que los ha inducido. A cada determinante antigénico (epítopo) del Ag le corresponde un sólo Ac.

Cada plasmocito sintetiza una sóla inmunoglobulina. En el transcurso de una inmunización, un número importante de plasmocitos segrega cada uno una inmunoglobulina específica. En el suero encontraremos así pues una mezcla de inmunoglobulinas. Estas inmunoglobulinas pueden ser determinadas o extraidas.

## 1.9.2 Estructura de las inmunoglobulinas

**Figura 23:** La Ig está compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas. La **Figura 23** ❶ representa la fórmula general de un aminoácido (R corresponde a un radical hidrocarbonado). Los polipéptidos son cadenas de aminoácidos que se pueden comparar con las perlas de un collar ❷. Hay dos **cadenas largas** o **pesadas,** ❸ (**H** o Heavy chain) que tienen alrededor de 400 aminoácidos por cadena y dos **cadenas cortas** o **ligeras,** (**L** o Light chain) que tienen aproximadamente 200 aminoacidos por cadena. Las cuatro cadenas están unidas entre sí por puentes disulfuro ❹. Según la composición de las cadenas largas, distinguiremos:

- la IgA (defensa de las mucosas) con una cadena pesada $\alpha$,
- la IgM (defensa inmediata contra las infecciones, sobre todo virales) con una cadena pesada $\mu$,
- la IgG (defensa general) con una cadena pesada $\gamma$,
- la IgE (alergia reargínica) con una cadena pesada $\varepsilon$ y
- la IgD (¿defensa?) con una cadena pesada $\delta$.

Las Ig pueden polimerizarse (dos moléculas para la IgA, cinco para la IgM, etc.) **(Fig. 26).**

**Figura 24:** Las cadenas pesadas y ligeras poseen dos regiones: una **región variable** (V), en rojo y una **región constante** (C), en azul. Es en las regiones variables en donde se localiza la especificidad anticuerpo. Se puede decir que son de alguna manera la cabeza buscadora de la Ig, la que atrae al antígeno. Podríamos comparar la región variable con las pinzas de una mantis religiosa – **Fig. 25** – o con las pinzas de una langosta.

La estructura primaria (es decir la cadena de aminoácidos en su simple expresión química) de estas Ig se representa convencionalmente como aparece en la **Figura 23** ❹: dos cadenas H y dos cadenas L unidas por puentes disulfuro. Diremos también que las cadenas H poseen una región bisagra y pueden separarse una de otra entre 0° y 180°, pudiendo adaptarse así al volumen del antígeno – **Fig. 23** ❻.

Dado que las Ig son moleculas proteicas de gran tamaño de migración lenta, migran en la electroforesis sérica hacia la zona gamma (ver electroforesis).

## 1.9.3 Fragmentos Fab-Fc

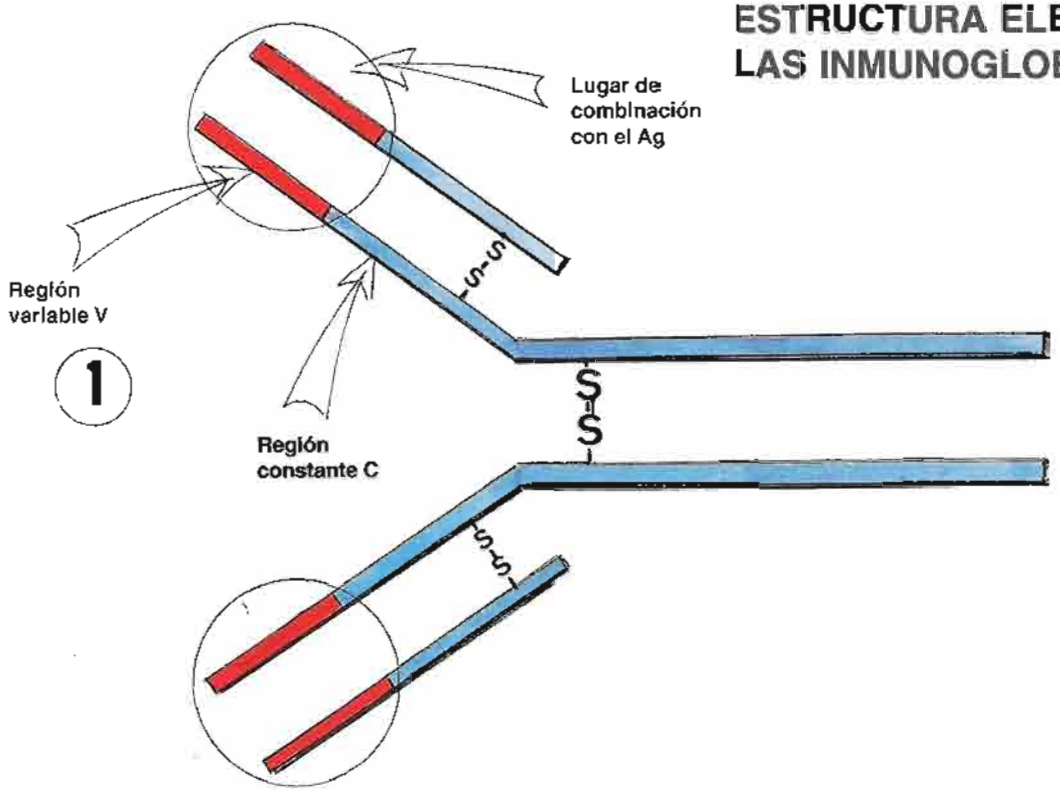
**Figura 24:** Si se trata una molécula de Ig con un enzima, la papaina, se obtienen dos fragmentos importantes: el **fragmento Fab y el fragmento Fc** ❷. El conocimiento de la existencia del fragmento Fab y del Fc es de gran importancia en la práctica, ya que cada una de estas partes tiene una función bien determinada. En numerosos trabajos sobre inmunología se hace mención a los fragmento Fab o Fc.

Los fragmentos Fab y Fc se comparan con las patas de la mantis religiosa – **Fig. 25.**

El **fragmento Fab**, las patas delanteras de la mantis religiosa ❷, es el que reconoce un antígeno específico y lo fija. Es el sitio del **anticuerpo Fab 2:** dos Fab unidos por puentes disulfuros **(Fig. 24).**

El **fragmento Fc**, las patas traseras de la mantis, posee una serie de receptores no específicos, que permiten a la Ig fijarse ("engancharse") **(Figura 25)** ❷ a una sustancia química, al complemento, o a una membrana celular. El fragmento Fc puede así mismo fijar un colorante fluorescente o un cuerpo radioactivo. Así se puede utilizar la Ig como marcador (ver inmunofluorescencia y RAST), en este sentido la Ig puede fijarse, siendo portadora de este colorante o isótopo, sobre una proteina que juega el papel de antígeno.

# ESTRUCTURA ELEMENTAL DE LAS INMUNOGLOBULINAS



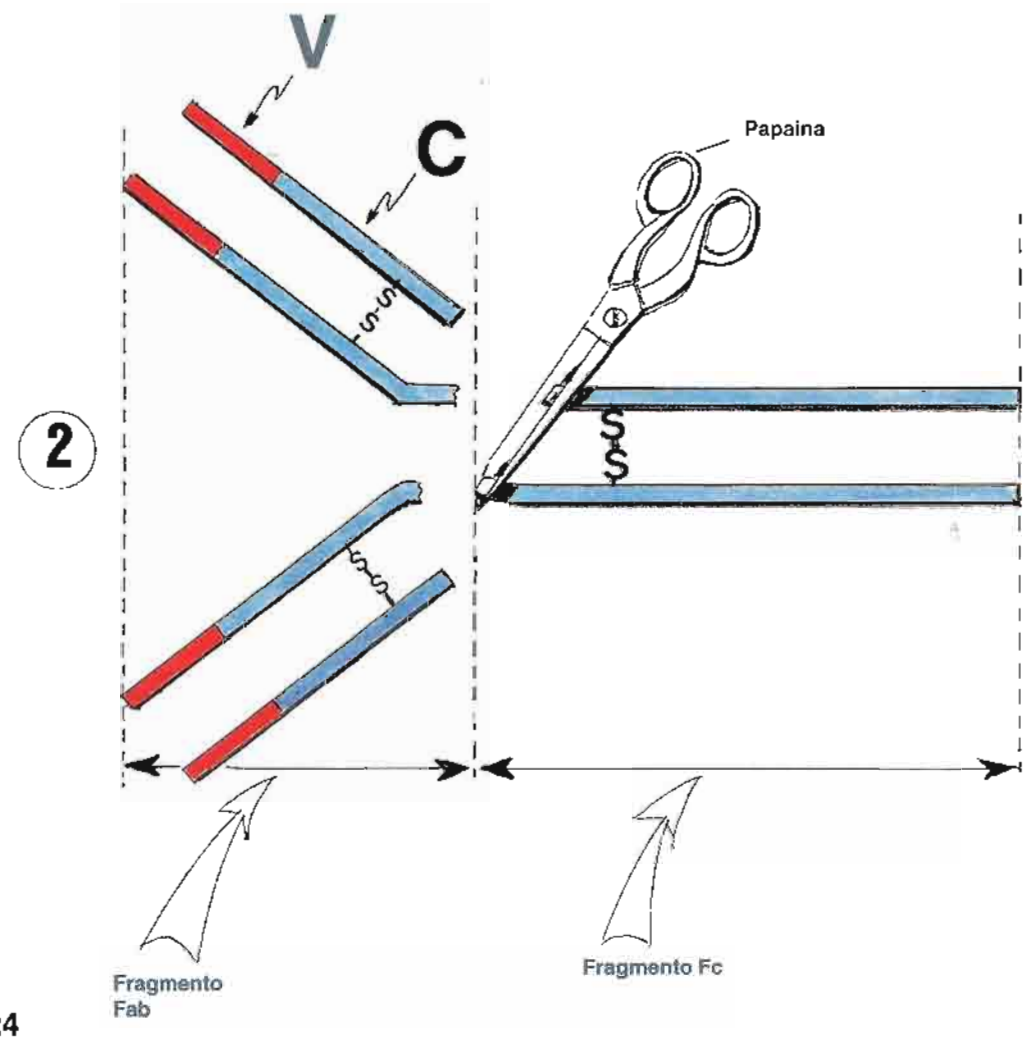




Figura 24

# ACCION DE LA INMUNOGLOBULINA

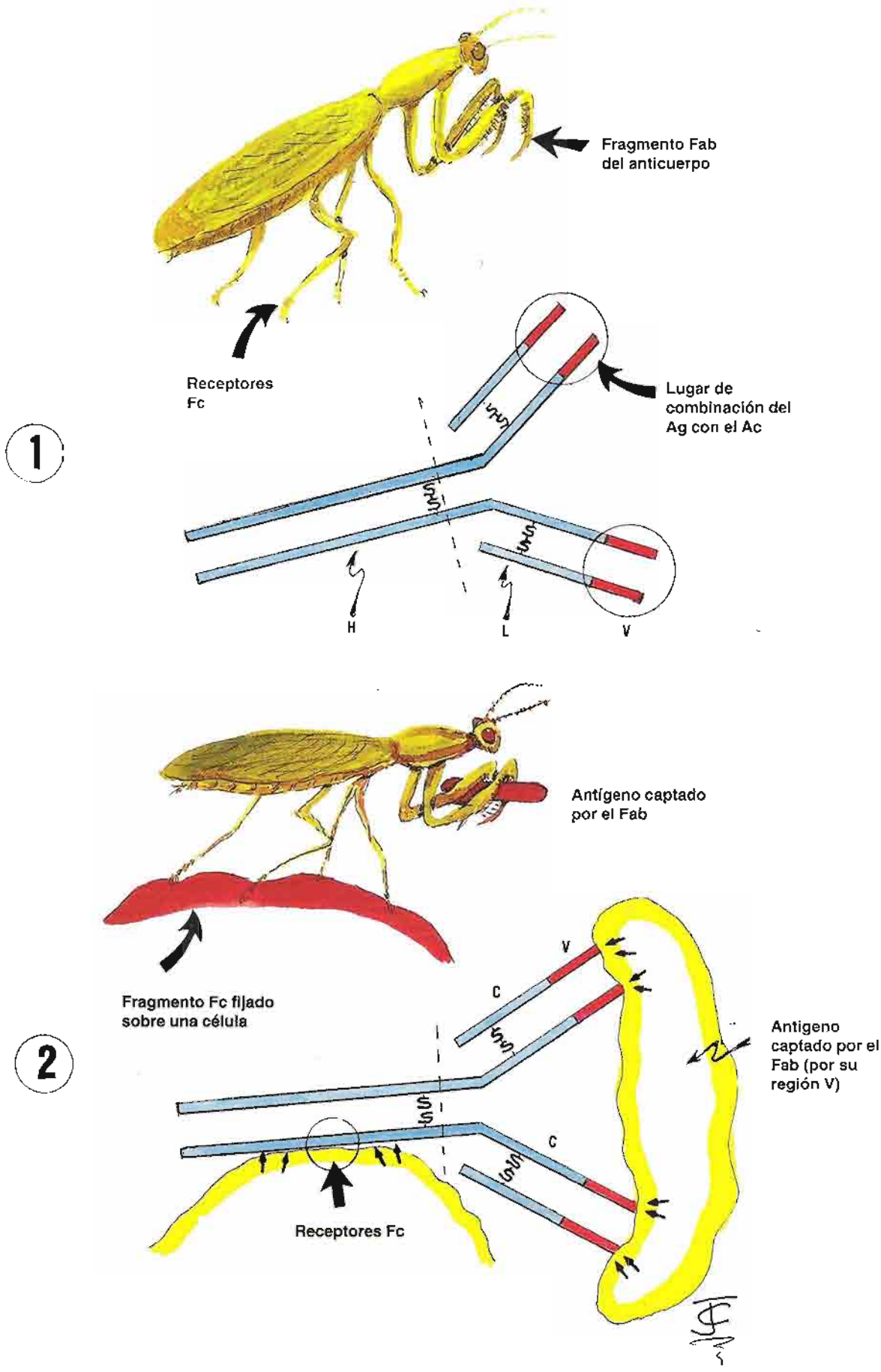
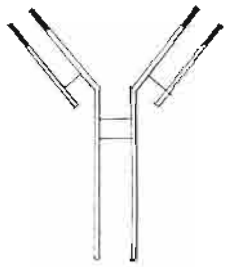
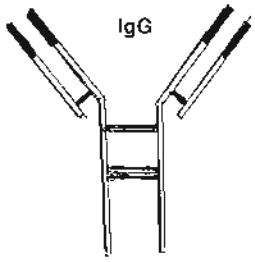


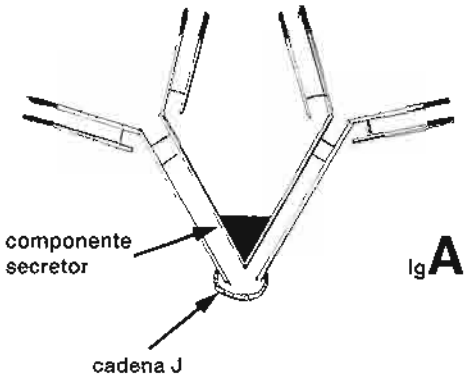

Figura 25

# CLASES DE INMUNOGLOBULINAS

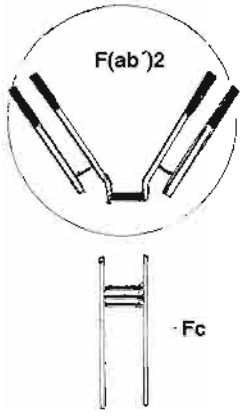


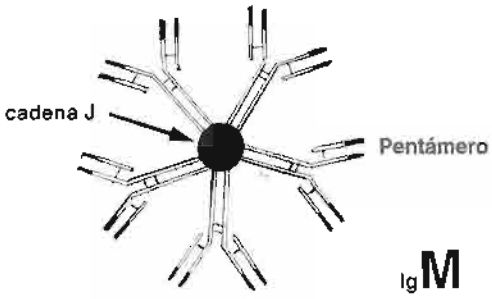
IgG monomérica



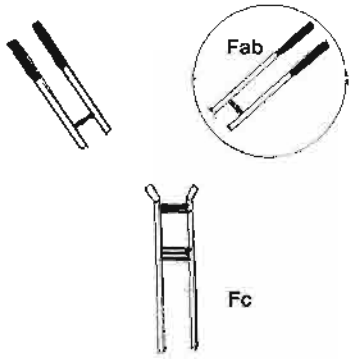



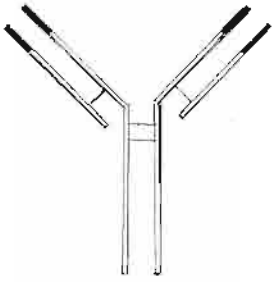

IgA secretora



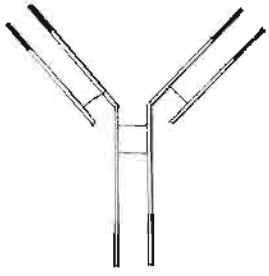




IgM



IgE monomérica



IgD monomérica

Figura 26

## 1.9.4 Clases de inmunoglobulinas

**Figura 26:** Se conocen cinco clases de Ig: la IgG, IgA, IgM, IgE e IgD. He aquí las caracteristicas principales:

1. **IgG:** representa el 75–80% de las Ig totales en el hombre. La IgG atraviesa la barrera placentaria. Desde el nacimiento hasta los primeros 4–6 meses de vida,la IgG presente proviene de la madre. La IgG se distribuye en todo el suero. Interviene en las infecciones, por **opsonización.** Neutraliza las **toxinas**. La IgG aparece sobre todo en la respuesta inmune secundaria, es decir después de un segundo contacto con el Ag. La secreción está modulada por la colaboración entre el linfocito T y el linfocito B. La IgG es muy opsonizante frente al macrófago y los polimorfonucleares que poseen receptores para la fracción Fc de las IgG.

Hay cuatro subclases de IgG: **IgG1**, **IgG2**, **IgG3** e **IgG4**. Salvo la IgG4, todas las demás fijan el complemento.

2. **IgA:** representa aproximadamente el 15% de las Ig en el suero. Está ligada sobre todo a la defensa de las mucosas y probablemente también a la eliminación de ciertos antígenos, eliminación discreta sin la intervención del "agresivo" complemento, ya que la IgA no fija este último (por lo menos por la vía clásica). La defensa de las mucosas está asegurada por la IgA secretora. Se trata de dímeros. Las dos cadenas monoméricas que constituyen el dímero están unidas entre sí por una pequeña **cadena polipéptidica J** que es sintetizada por el plasmocito secretor de IgA. La IgA monomérica constituyen la **IgA sérica** que es eliminada por el hígado.

La **IgA secretora** o **IgA-s**, es sintetizada principalmente por los plasmocitos localizados a nivel de la lámina propia (la lámina propia se encuentra sobre la mucosa de las vellosidades intestinales, **Figuras 12 y 13**)

Hay dos subclases de IgA: la **IgA1** y la **IgA2** (dependiendo de las uniones de las cadenas H y L entre ellas). La IgA secretora resiste a las enzimas digestivas gracias al **componente secretor**. Este **componente secretor** (secretory component) se fija al dímero. Es sintetizado por las células epiteliales, donde actua a nivel de la membrana celular como receptor para la IgA. Esta IgA dimérica con su componente secretor es transportada hacia el polo luminal de la célula, es decir el polo corespondiente a la luz del órgano, y es vertida a la luz intestinal **(Fig. 12 ❾)**.

**La IgA scretora o IgA-s no opsoniza.** Fija el antígeno por su región variable y forma complejos que no se pueden absorber. Al captar los Ag, impide la adherencia de microbios y virus a la mucosa, evitando así su penetración en el organismo.

La fracción Fc de la IgA no juega ningún papel, probablemente al estar enmascarada por el componente secretor.

El déficit de IgA se presenta en 1 de cada 700 individuos, ocasionando en estos pacientes infecciones respiratorias y gastrointesnales de repetición. La IgA es "la pintura antiséptica de las mucosas" (Burnet).

En caso de déficit, la IgM puede reemplazar a la IgA. Puede haber déficit combinado de IgA e IgM.

Al lado de la IgA secretora, la **IgA sérica** monomérica, podría jugar un papel importante en la defensa. Al no fijar al "irascible" complemento, elimina discretamente, sin reacción inflamatoria, ciertos antígenos (sobre todo alimentarios) que atraviesan la mucosa a pesar de la presencia de IgA secretora. Constituye así una segunda linea de defensa. La IgA sérica es sintetizada principalmente a nivel de los tejidos linfoides no directamente asociados a las mucosas: bazo, médula osea y ganglios. Aunque no se conoce su destino final, parece que en el hombre es probablemente catabolizada en el hígado.

3. **IgM:** representa aproximadamente el 10% de las Ig. Se trata de pentámeros (5 unidades) en el que los monómeros están unidos por una cadena J. Es también llamada **macroglobulina** o **globulina pesada.** La IgM es la primera en aparecer en una reacción inmune (**reacción primaria**) **(Fig. 28)**. Dado que su vida media es corta, su presencia **indica una infeción reciente** (por ejemplo en la toxoplasmosis). La IgM gracias a está estructura polivalente, produce fenómenos de aglutinación y fija facilmente el complemento. Debido a su gran volumen se encuentra principalmente localizada en la sangre. No atraviesa la barrera placentaria. Es la primera molécula que se encuentra como respuesta a un invasor vascular, viral o microbiano.

4. **IgD:** se presenta en pequeña cantidad en el suero y no tiene capacidad para fijar el complemento. Su papel no es bien conocido. Aparece en la superficie de los linfocitos antes que la IgM. Sus niveles aumentan en ciertas enfermedades como el mieloma D o el Kwashiorkor.

5. **IgE:** en el individuo normal está presente en cantidad ínfima. Se trata de una Ig citófila, es decir que se fija a la superficie de ciertas células, fundamentalmente al mastocito y al basófilo. Es también homocitotropa, es decir que sólo se fija a la superficie de las células de una misma especie. No fija el complemento. Predomina en los tejidos perivasculares donde se localizan los mastocitos. **La IgE es la responsable de las reacciones alérgicas de tipo I.** Los niveles de IgE están mucho más elevados en los pacientes que padecen una alergia de tipo I. La combinación entre IgE y un antígeno específico para esta IgE sobre la membrana del mastocito, provoca la liberación de los gránulos por parte de este último (**fenómeno de degranulación)**. Estos gránulos contienen numerosos mediadores.

**La IgE juega un papel importante en la alergia,** pero parece también intervenir en la lucha **contra los parásitos** y quizás contra las células cancerosas. Niveles elevados de IgE en un recien nacido aparentemente sano nos permite predecir con bastante precisión una predisposición a padecer afecciones alérgicas. Los niveles de IgE están sobre todo elevados en el **eczema atópico** y en las **parasitosis** intestinales. Encontramos también un aumento de la IgE en ciertos mielomas y en enfermedades que van acompañadas de un déficit permanente o pasajero de linfocitos T: como la rubeola, la mononucleosis, la enfermedad de Hodgkin, las disglobulinemias, etc. Veremos posteriormente el importante papel que juega la IgE específica en las alergias de tipo I.

## INMUNOGLOBULINAS EN EL NIÑO

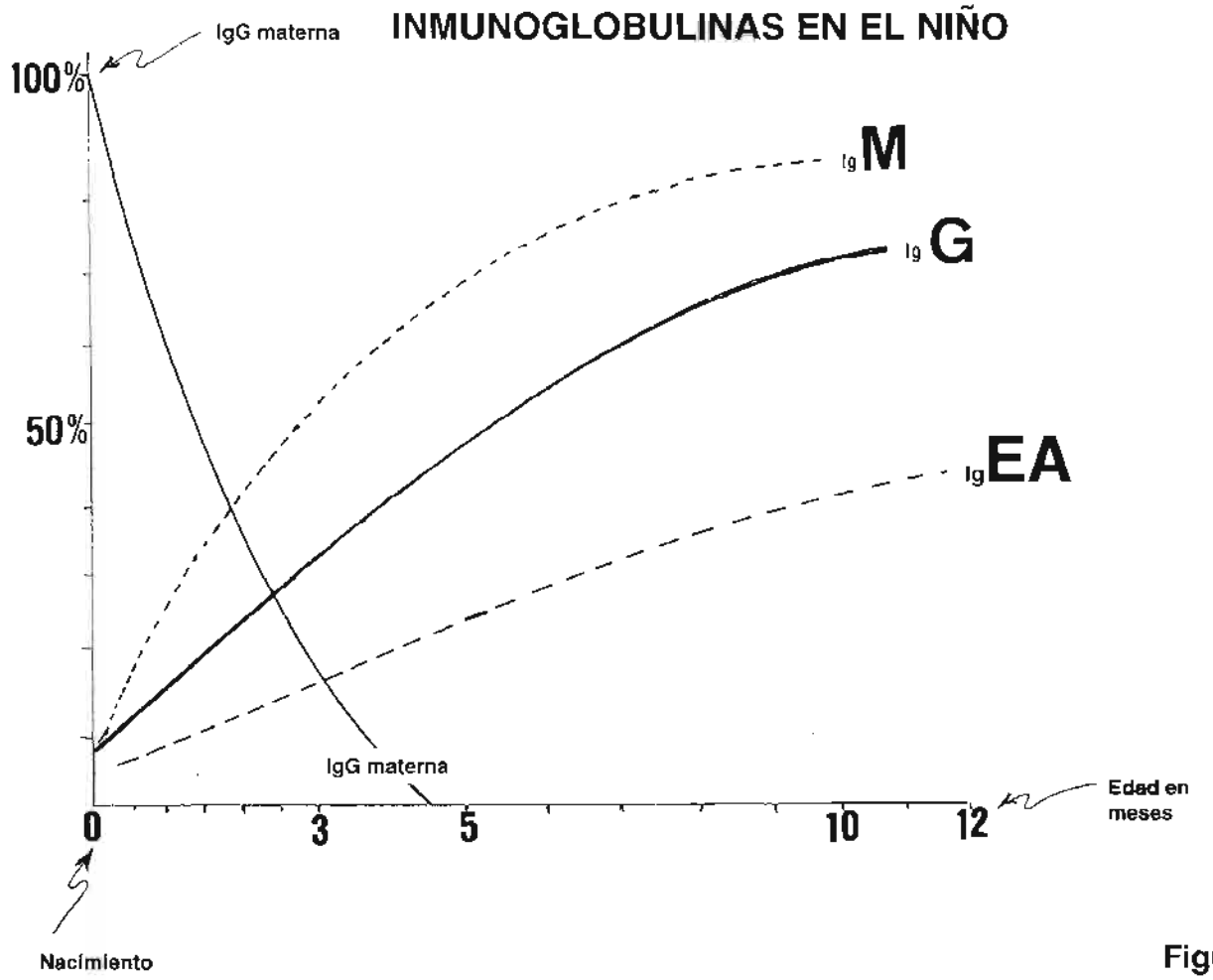



Figura 27

## IgG E IgM EN LA INFECCIÓN

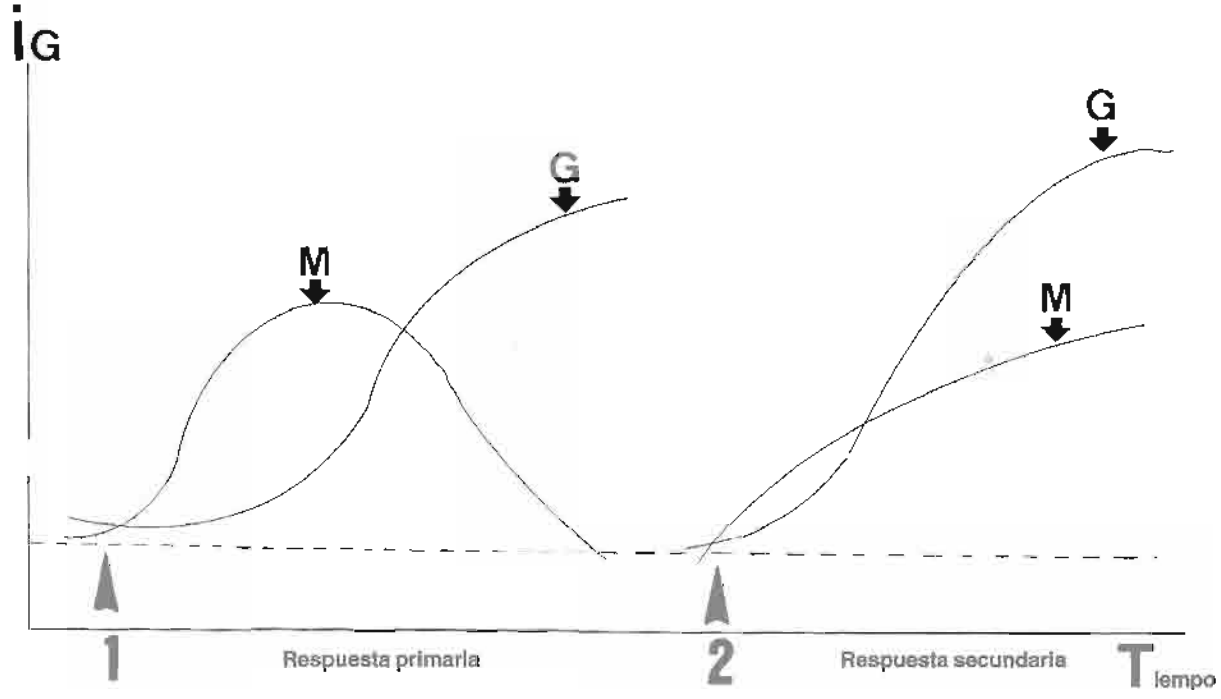



Figura 28

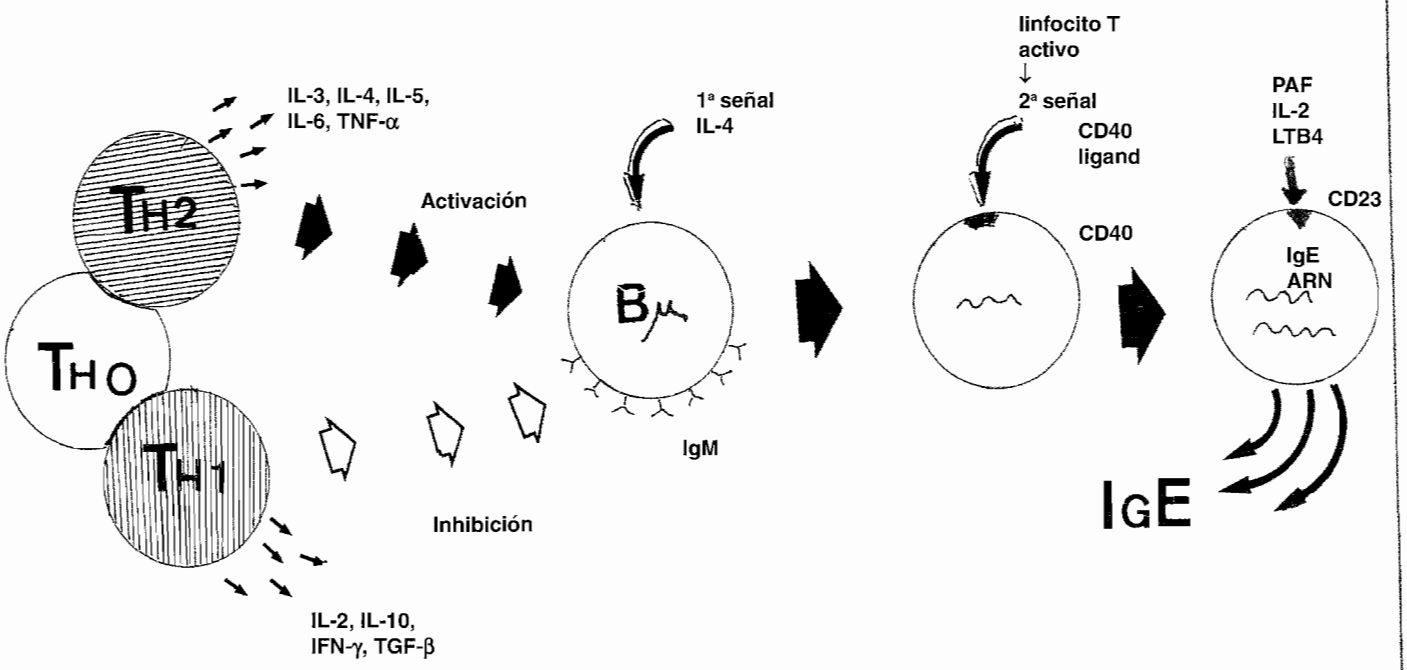
## 1.9.5. Anticuerpos presentes en el nacimiento

La curva – **Figura 27** – muestra la evolución de la concentración sérica de las Ig en el niño, dependiendo de su edad. En el momento del nacimiento (punto 0) el 100% de las inmunoglobulinas presentes en el neonato son de origen materno (IgG). Hay muy poca cantidad de IgA e IgM, pero la menor infección hace aumentar considerablemente la IgM. Las Ig maternas son metabolizadas entre el 3º y 5º mes. Hacia el 6º mes el bebe ha sintetizado aproximadamente 33% de IgG, 30% de IgA y 70% de IgM. La IgG se produce hacia el 2º mes. La IgA e IgE se pruducen las últimas. Se piensa que si hay un retraso en la síntesis de Ig el niño pequeño puede sufrir un periodo de **hipogammaglobulinemia llamada fisiológica**. Esto se produce cuando ha eliminado la IgG materna y todavía no ha sintetizado suficientes Ig propias. Este déficit momentaneo aumenta de forma provisional la sensibilidad a las infecciones bacterianas. La **Figura 27** da una imagen aproximada de la evolución de la concentración de las Ig en la sangre, concentración que puede variar ligeramente de un individuo a otro.

## 1.9.6. La IgM y la IgG en las respuestas primaria y secundaria

La **Figura 28** representa la evolución de la IgM y de la IgG en el curso de una infección. Al producirse una primera infección ❶ debido a la estimulación antigénica, aparece en primera instancia la IgM y unos días después la IgG. Es la **respuesta primaria**. La determinación de IgM específica en sangre premite intuir una infección reciente. Así por ejemplo si se encuentran en un paciente anticuerpos antitoxoplasma, o anticuerpos antirubeola de tipo IgM se puede deducir una infección primaria reciente. En las infecciones siguientes ❷, es la IgG la que aparece rápidamente en cantidad importante. Es la **respuesta secundaria**. Así por ejemplo,la presencia de anticuerpos antitoxoplasma o antivirus de la rubeola de tipo IgG apunta hacia una antigua infección.

## REGULACION DE LA PRODUCCION DE IgE




## PRINCIPALES REGULADORES

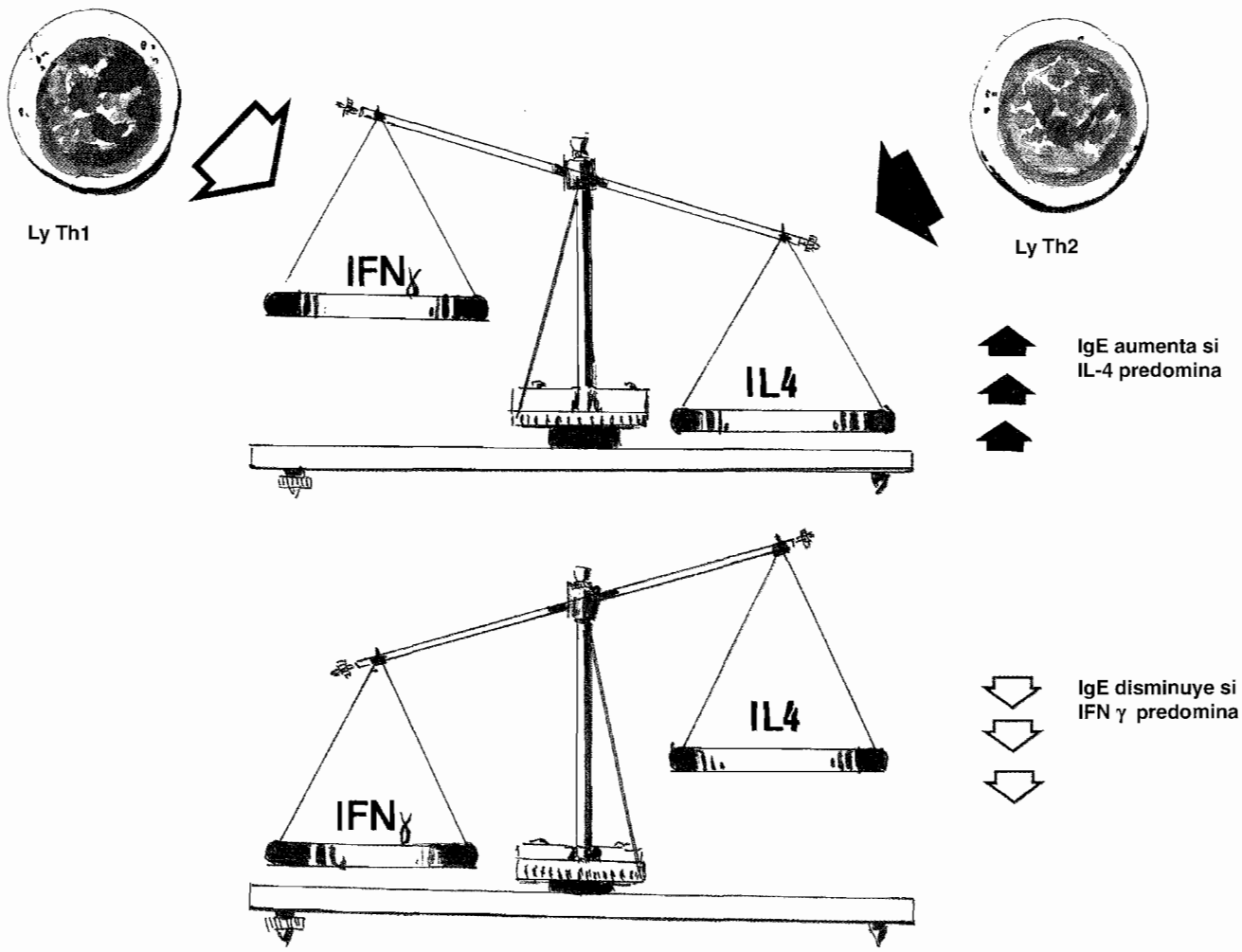



Figura 29

## 1.9.7. Inmunoglobulina E y su regulación

Visto su papel primordial en las afecciones alérgicas más frecuentes así como el caracter particular de su regulación, la IgE merece una descripción más profunda.

Si bien la reacción anafiláctica de tipo I y en particular las reacciones cutaneas que le acompañan se pusieron de manifiesto en 1920 por medio de una sustancia específica presente en el suero, que permitía una transferencia pasiva (reacción de **Prausnitz-Küstner**), y que se llamo **"reargina"**, no fue hasta 1967 cuando esta quinta clase de anticuerpo, la inmunoglobulina IgE, se identificó definitivamente. La principal razón de este largo misterio son los niveles muy bajos de IgE en el suero en comparación con otras Ig: normalmente 100–200 nanogramos/ml, es decir ¡10.000 veces menor que la IgG!.

La producción de IgE se rige por otras reglas diferentes a las de las otras Ig: la producción máxima se obtiene por un contacto relativamente poco frecuente (cada 3–4 semanas) con cantidades ínfimas del alergeno (del orden de microgramos). Un contacto más intenso con el alergeno favorece por el contario la formación de IgG. Algunos adyuvantes bacterianos (Bordetella pertusis: bacilo de la tosferina) o químicos (hidróxido de aluminio) favorecen particularmente la formación de IgE.

En el individuo normal la formación de IgE está en general suprimida de forma eficaz. Sin embargo cuando el mecanismo supresor está temporalmente fuera de servicio, por ejemplo en el curso de una infección viral (rinovirus, mononucleosis infecciosa), el contacto con un alergeno potente puede dar lugar a la producción de IgE de una manera prolongada. Esto es lo que se denomina el **"escape alérgico"** ("alergic breakthrough") que explica el porqué ciertos individuos pueden repentinamente volverse muy alérgicos a un alergeno aislado que hasta el momento habían tolerado siempre.

Está forma de alergia y de regulación de la respuesta IgE debe distinguirse de la predisposición general para producir IgE, que encontramos en el síndrome atópico o en el curso de ciertos déficits inmunitarios. En estos casos, la alteración permanente de la balanza inmunológica entre linfocitos helper y supresores es probablemente el origen de unos niveles elevados de IgE.

En estos últimos años las investigaciones han aportado nuevos datos sobre la diferenciación de los linfocitos B y la regulación de la producción de la IgE **(Fig. 29)**. Los linfocitos B todavía indiferenciados y portando unicamente IgM sobre su superficie (B) se diferencian en células productoras de IgE trás la emisión de una primera señal producida por la IL-4, seguida de una segunda señal que hace intervenir el receptor llamado CD40. Está segunda señal es producida por una molécula llamada "CD40 ligand", exprimida sobre las células T activadas así como sobre otras células activadas (por ejemplo linfocitos B infectados por virus de Epstein-Barr). El resultado de estas dos señales es la expresión intranuclear de ARN mensajeros para la IgE, que son de dos tipos: un ARN de cadena corta y un ARN de cadena larga que codifica la molécula de IgE. El linfocito B activado y transformado para la producción de IgE exprime así mismo un receptor de baja afinidad para la IgE (FcεRII) conocido bajo el nombre de CD23. La expresión de este receptor está regulada por diversas citoquinas, tales como IL-2 e IL-4 o por diversos factores inflamatorios como LTB4 y PAF. En este esquema, las citoquinas producidas por los linfocitos T helper de clase Th2 estimulan la producción de IgE, mientras que ciertas citoquinas producidas por los linfocitos Th1, en particular IFN γ y TGF β, actuan como potentes inhibidores de la expresión de los ARN mensajeros para la IgE.

# INMUNIZACION POR UN Ag QUE CONTIENE VARIOS EPITOPOS

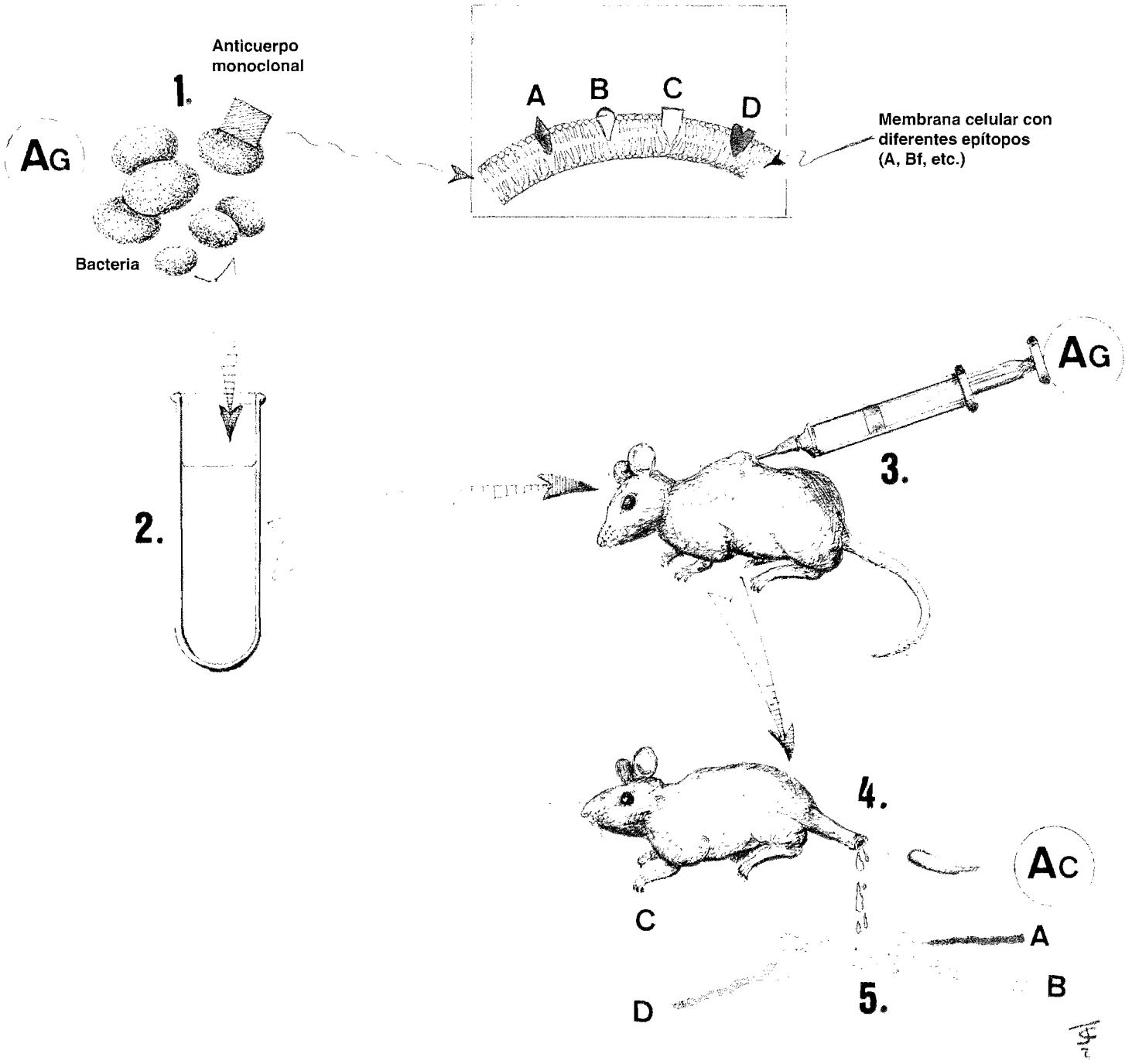



Figura 30

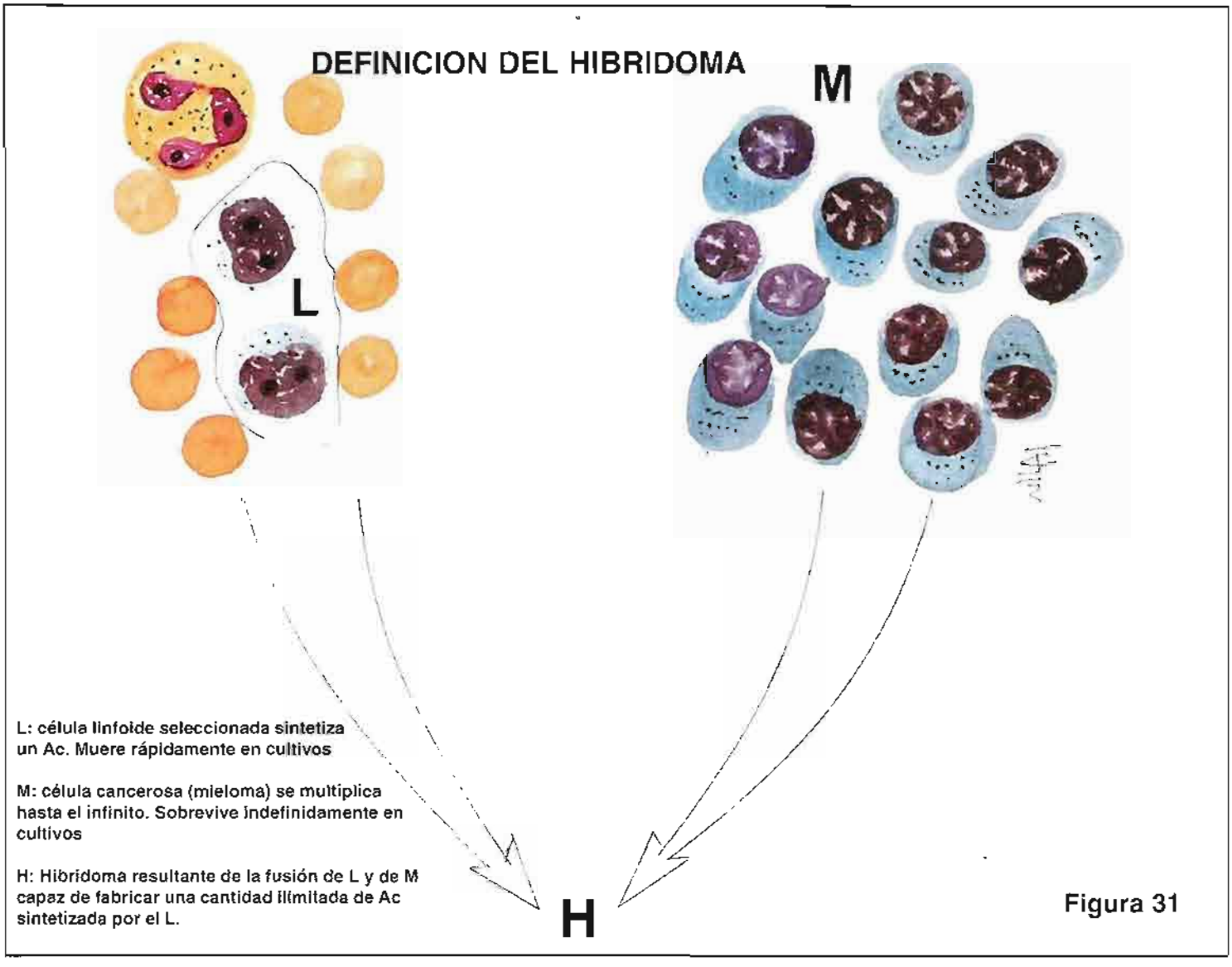



Figura 31

# 1.10. Anticuerpos monoclonales (AcM), anticuerpos quiméricos y clonaje del genoma

## 1.10.1. Definiciones

La posibilidad de elaborar AcM es un descubrimiento importante en inmunología. El principio se ilustra en la **Figura 31**.

¿Qué es un **AcM**?. Es un Ac que es **específico para un sólo determinante o epítopo**. Se sabe que un antígeno es un elemento químico, tal como una proteina o, un elemento particular (bacteria, glóbulo rojo, parásito, etc.) que comporta de hecho numerosos lugares o determinantes antigénicos **(Figura.30)**.

**Figura 30:** Supongamos bacterias. Un esquema de su pared célular muestra su doble membrana lipoproteica que contiene proteinas o polisacáridos de membrana y sus diversos epítopos A – B – C – D ... ❶ En realidad puede haber un número considerable: miles. Si este antigeno en suspensión ❷ se inyecta a un ratón ❸, este sintetiza una mezcla de anticuerpos específicos **(Ac policlonales)** contra cada determinante: anti A – anti B – anti C – anti D ❹, etc.. Cada color (en ❹) representa un anticuerpo específico dirigido contra un sólo determinante. A título de ejemplo: las células cancerosas tienen sobre su membrana determinantes difíciles de identificar y de distinguir de los determinantes de la membrana de células normales del mismo tejido. Gracias a los AcM, se dispone de Ac específicos contra cada determinante en particular, lo que permitirá distinguir los determinante (o Ag de membrana) de células cancerosas de los de otras células. En realidad, como veremos, las cosas no son tan sencillas.

El problema está en separar y fabricar en gran cantidad los anticuerpos monoclonales específicos contra los diferentes determinantes que nos interesen.

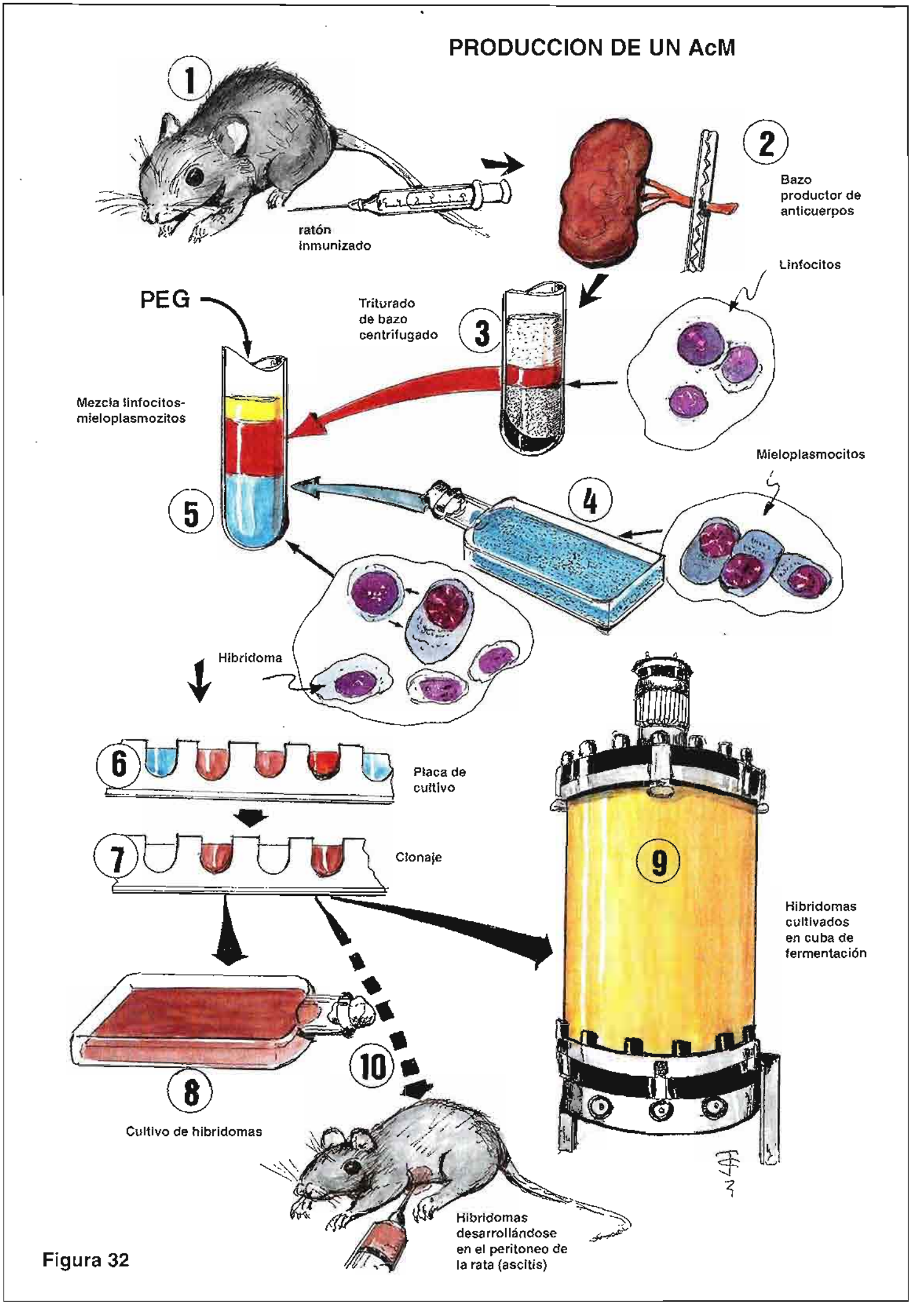

PRODUCCION DE UN AcM
1
ratón
inmunizado
2
Bazo
productor de
anticuerpos
Linfocitos
PEG
Triturado
de bazo
centrifugado
3
Mezcla linfocitos-
mieloplasmozitos
Mieloplasmocitos
5
4
Hibridoma
6
Placa de
cultivo
7
Clonaje
9
Hibridomas
cultivados
en cuba de
fermentación
10
8
Cultivo de hibridomas
Hibridomas
desarrollándose
en el peritoneo de
la rata (ascitis)

Figura 32

## 1.10.2. Producción de los anticuerpos monoclonales (AcM)

Para comprender el principio de elaboración de un anticuerpo monoclonal, hay que recordar que el linfocito B secretor de anticuerpos no sobrevive en un cultivo. Por el contrario, algunas células tumorales sobreviven indefinidamente en cultivos.

**Figura 31:** El principio de la produción de ACM consiste pues en conferir a una misma célula, la "inmortalidad" de una célula tumoral y la capacidad de producción de anticuerpos específicos del linfocito B. La célula tumoral actua como motor y la célula linfoide como productora de Ig. La fusión de estas dos células da lugar a la formación de una célula única llamada **hibridoma** (H). Cada hibridoma sintetiza un sólo tipo de anticuerpo específico, es decir contra un sólo determinante. El método de los hibridomas permite teóricamente fabricar una cantidad ilimitada de los AcM deseados.

La **Figura 32** esquematiza la fabricación de AcM.

En ❶ inmunización de un ratón con una suspensión de Ag. Este Ag contiene varios determinantes de los cuales sólo uno nos interesa. Será preciso pues, al final, selecionar el Ac deseado dirigido contra un sólo determinante y reproducirlo en cantidades necesarias.

En ❷, depués de un tiempo determinado, el animal habrá fabricado un surtido de Ac que serán secretados sobre todo por los órganos linfoides, el bazo y ganglios. El bazo es extraido.

En ❸, el bazo extraido es triturado. Este triturado se filtra y se mezcla con un medio de cultivo esteril. La mezcla es centrifugada. Gracias a la centrifugación se obtienen diferentes capas que contienen: glóbulos rojos, medio de cultivo y lo que nos interesa, un característico anillo de células linfoides (en rojo sobre la figura).

En ❹, cultivo de plasmocitos (en azul) tumorales provinientes de un mieloma. Se trata de células mielomatosas (mieloplasmocitos).

En ❺, células cancerosas y células linfoides son mezcladas e incubadas. Se añade una mezcla de polietilenglicol (PEG) que facilita la fusión de la célula linfoide con el mieloplasmocito.Es aquí donde nos encontramos con la primera gran dificultad, ya que no se obtiene más que un número limitado de células fusionadas o hibridomas. Entre las células no fusionadas, los linfocitos mueren espontanemente mientras que los mieloplasmocitos se desarrollan hasta llegar a invadir todo el cultivo. Es por tanto importante eliminarlos antes. Esta operación se consigue tratando estas células, antes de la operación de fusión, con medios especiales (HAT). Solamente las células fusionadas se desarrollarán entonces. Los numerosos detalles técnicos de está operación sobrepasan el marco de esta obra.

En ❻ los hibridomas se separan (por extrema dilución) y se depositan en pocillos de placas de cultivo. A continuación se examina si forman anticuerpos y se identifican analizando el sobrenadante de estos microcultivos.

En ❼ se selecionan los hibridomas que fabrican los anticuerpos que nos interesan y se depositan en nuevos pocillos donde se les deja desarrollarse. Es la operación de **clonaje.**

En ❽ las clonas son a continuación cultivadas en masa en un medio apropiado o inyectadas al peritoneo de un ratón histocompatible ❿. Se obtiene así una gran cantidad de AcM. En la actualidad la producción masiva de tales anticuerpos puede hacerse enteramente en cultivos "in vitro", utlizando técnicas análogas a la de fermentación ❾, evitando así usar un método cruel para los animales de experimentación.

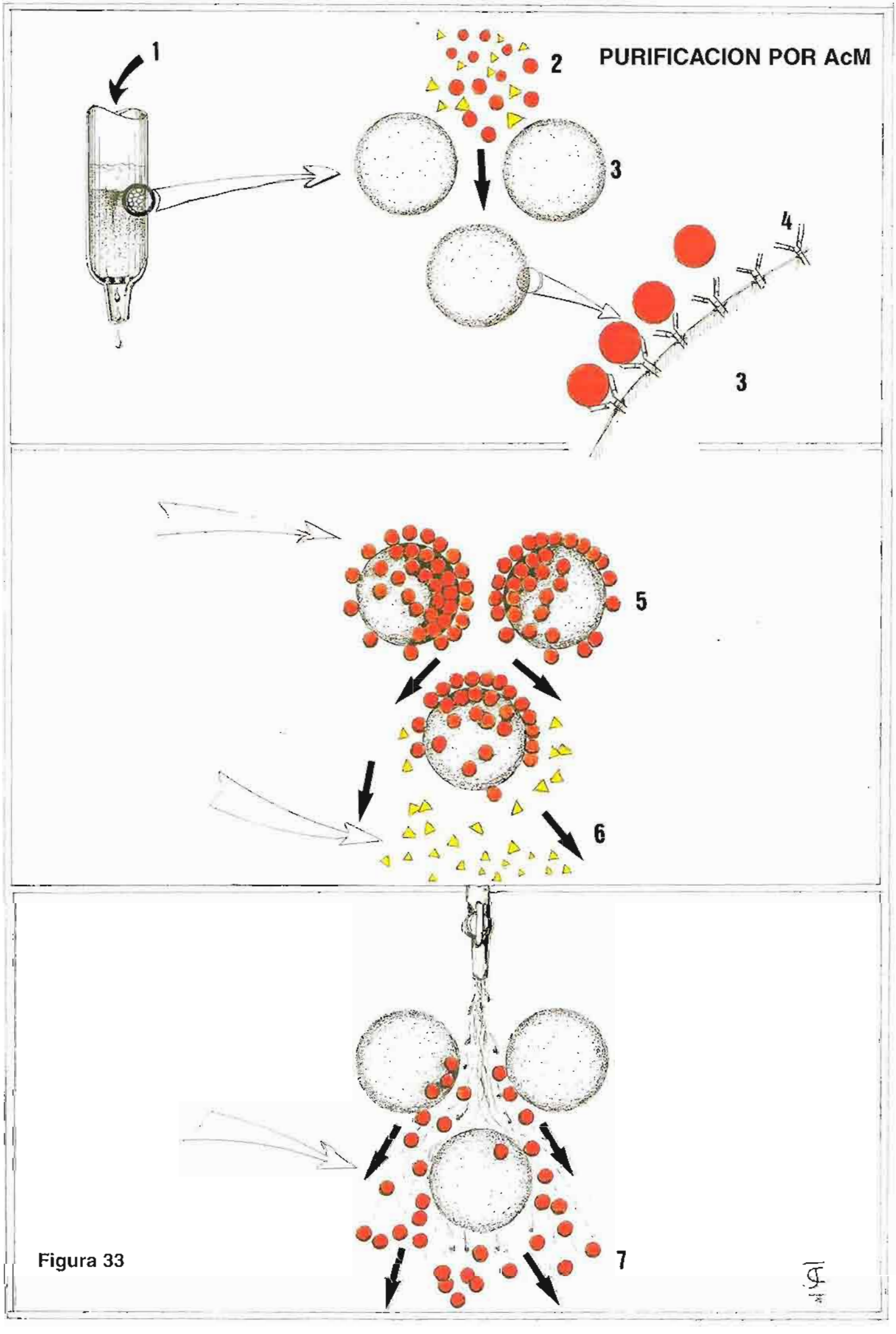



Figura 33

## 1.10.3. Importancia de los anticuerpos monoclonales – Ejemplos de utilización.

El descubrimiento de los AcM ha dado origen a un número considerable de trabajos concernientes a los campos más variados: bioquímica, microbiología, oncología, diagnóstico del embarazo, medicina legal, vacunas, toxicología, fisiología, etc.

Nos aproximaremos (¡desde muy lejos!) al problema para subrayar lo esencial de los principios, las dificultades y las esperanzas con algunos ejemplos.

Los AcM son específicos para un sólo epítopo que forma parte a menudo de un Ag complejo. Permite identificar y aislar o separar un Ag a partir de una mezcla. Las **Figuras 33** y **34** ilustran este proceso cuyo principio es aplicado en numerosos análisis y purificaciones.

En la **Figura 33**, se intruduce la mezcla a analizar en un tubo apropiado ❶. Para simplificar, en el dibujo no hay más que dos epítopos representados uno por círculos rojos y otro por triángulos amarillos ❷. El AcM se dirige contra el epítopo "círculo rojo". Si se vierte la solución que contiene la mezcla de Ag, el AcM "atrapa" ❺ los circulos rojos, dejando pasar los triángulos amarillos ❻. Al final se recuperan los epítopos "círculos rojos" por lavado. Se obtiene así un producto extremadamente puro.

Los AcM han permitido grandes progresos en la especificidad de los test diagnósticos. En la **Figura 34**, la fase sólida está representada por las paredes de un tubo. El AcM (en verde) se fija a la pared del tubo ❶. Se introduce la solución o el líquido biológico (por ejemplo suero) conteniendo el antígeno ha descubrir (por ejemplo hormona, anticuerpo IgE, etc.) (en amarillo) que porta un epítopo que es reconocido por el AcM fijado ❷. Para poner en evidencia este complejo ❶ ❷, se usa otro AcM dirigido contra otro epítopo del mismo alergeno a detectar (técnica llamada de "sandwich"). Este AcM, llamado revelador, puede marcarse bien con un átomo radioactivo ❸ (en rojo) por la técnica RIA, o bien con un enzima ❹ (en azul) según la técnica ELISA.

En citología y hematología los AcM permiten identificar, clasificar y aislar lineas celulares, precisar el estadío de diferenciación, localizar células anormales así como seguir la evolución de una enfermedad durante el tratamiento. Existen numerosos AcM comercializados que reconocen Ag de superfice de células hematopoyéticas. Por ejemplo CD3 para los linfocitos T (OKT3), CD4 (OKT4) para marcar los linfocitos Th, CD8 (OKT8) para los linfocitos citotóxicos y Ts, etc.

Las células leucémicas pueden ser identificadas en una supensión celular. La **Figura 35** muestra en A el aspecto microscópico de la sangre de un leucémico. Es practicamente imposible diferenciar y contar al microscopio las células patológicas. En B, estas células han sido marcadas por un AcM combinado con un colorante fluorescente (inmunofluorescencia). Gracias a la citofluorometría (FACS) se pueden separar estas células leucémicas de las células normales. Este método es usado para "limpiar" la médula de sus células patológicas cuando se realiza un injerto. En ciertas leucemias, se extrae la médula al paciente antes de practicar un tratamiento inmunosupresor agresivo. Después del tratamiento se le reinjerta está médula,que ha sido previamente purificada ("lavada") de células leucémicas.

Sí se sospecha la **reacción injerto contra huesped (GVH)**, se pueden eliminar las células T del injerto por medio de AcM CD3 (OKT3). En la actualidad se usa para este fín sobre todo la ciclosporina. En el campo de los injertos, los AcM permiten de una forma más precisa la tipificación de los HLA. En el cancer, se sabe que son fundamentalmente las metástasis las que matan. Ahora bien, con los métodos clásicos, en la práctica sólo se ponen en evidencia las metástasis de más de 0,5 cm de diámetro. La inmunocintigrafía es uno de los métodos que se ha hecho posible gracias a los AcM.

El principio de la **inmunocintigrafía** consiste en la inyección intravenosa de un AcM marcado con un isótopo radioactivo y específico para los antígenos ligados a los tumores y que permite localizarlos cuando se fija a estos.

El uso de Ac policlonales contra el Ag carcinoembrionario (CA) y la α-fetoproteina era ya conocido.

La inmunocintigrafía se realiza gracias a diversas técnicas radiotomográficas sofisticadas. En la práctica, actualmente, sólo ± 0,1% del AcM inyectado se fija sobre el tumor. Además, uno de los grandes problemas es el "ruido de fondo" tisular, es decir la emisión radioisotópica proveniente de las fijaciones no específicas del AcM.

# INMUNODIAGNOSTICO CON AcM

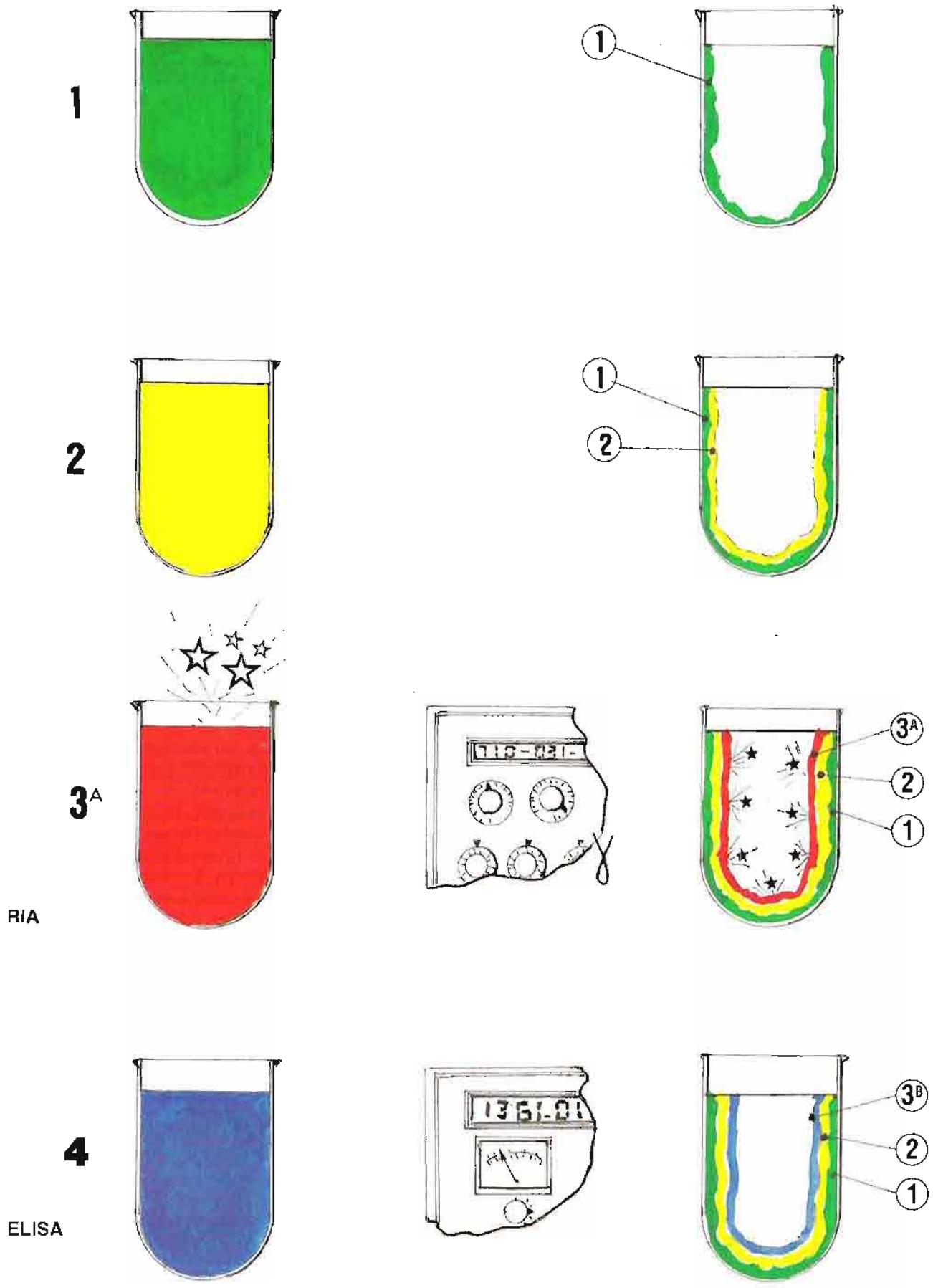
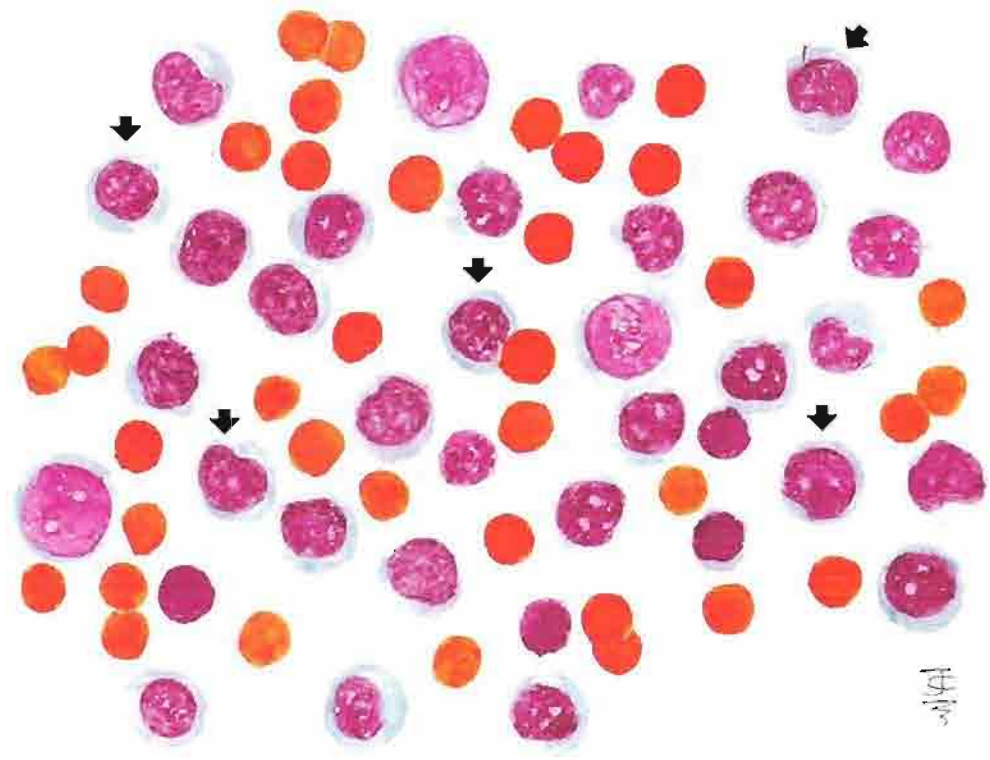



Figura 34

## MARCAJE CELULAR

A



B

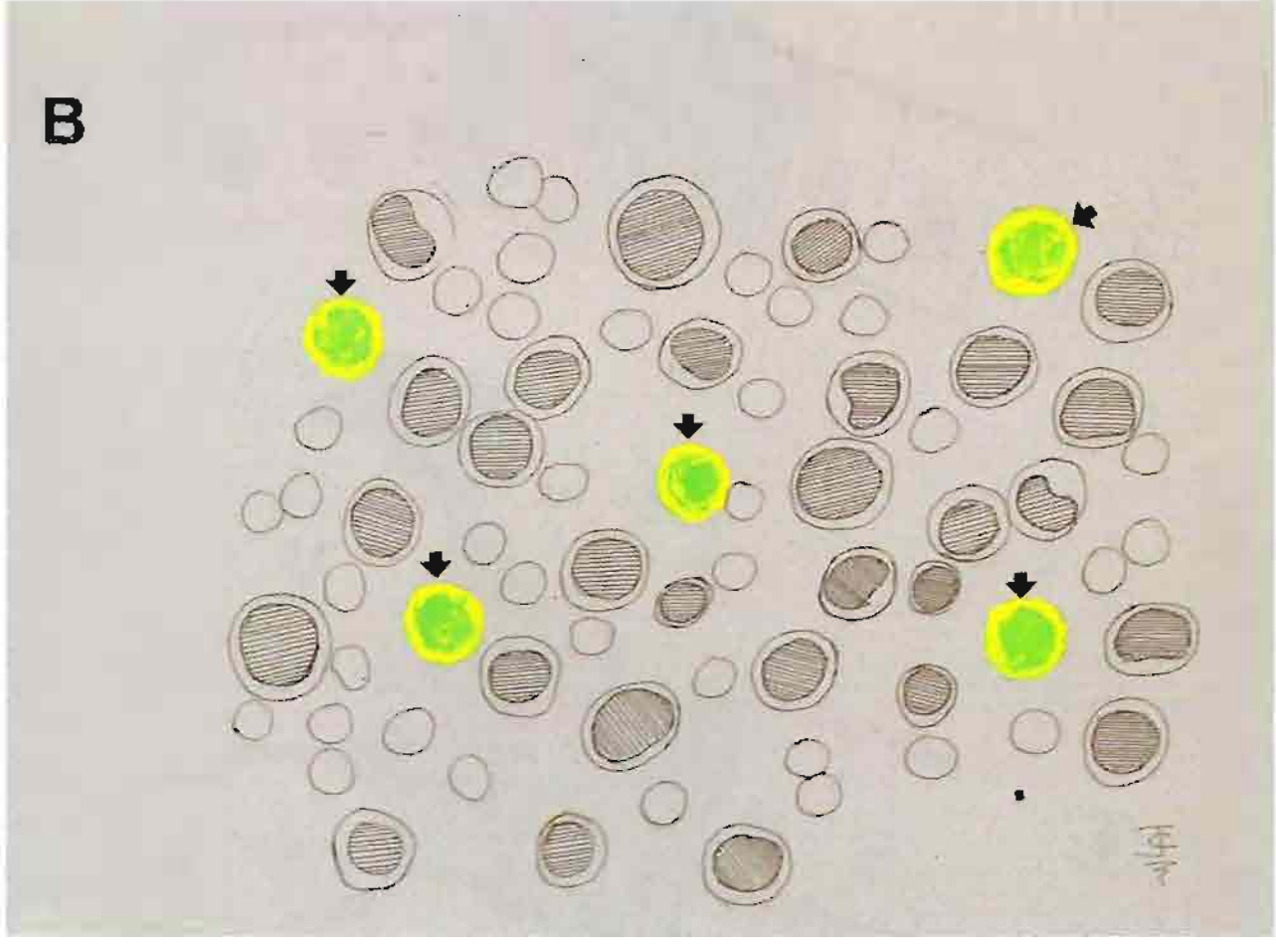


Figura 35

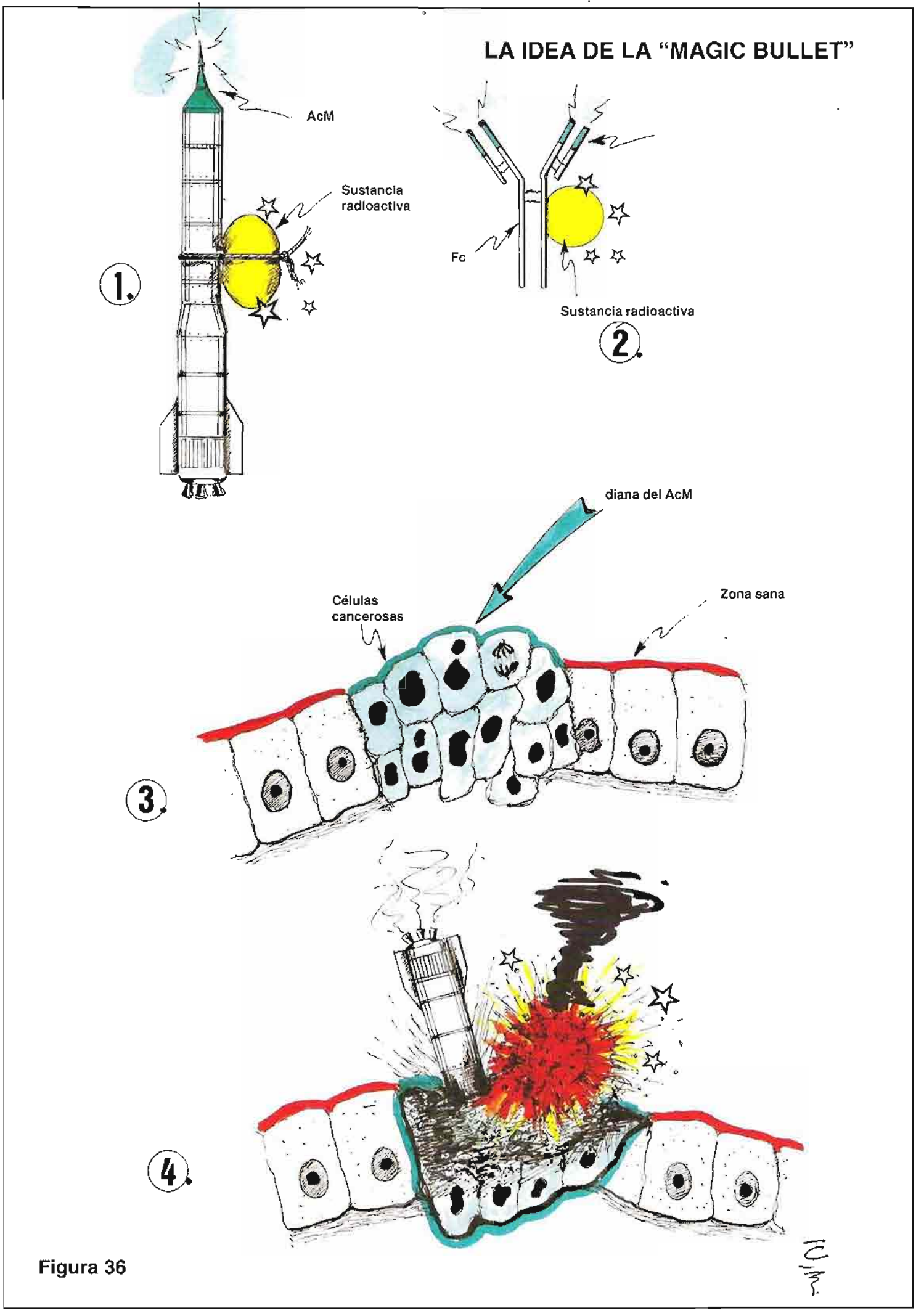

LA IDEA DE LA "MAGIC BULLET"
AcM
Sustancia radioactiva
1.
Fc
Sustancia radioactiva
2.
diana del AcM
Células cancerosas
Zona sana
3.
4.

Figura 36

## 1.10.4. Los sueños de los investigadores

Cuando se descubrieron los AcM, la gran esperanza de los investigadores era la de poder fabricar anticuerpos específicos para cada tipo de tumor y servirse de ellos como vectores dirigidos exclusivamente contra el tumor. Combinándolos con un isótopo permitirán, gracias a la cintigrafía (+ scanner), localizar exactamente el tumor y estimar su volumen.

Por otra parte se esperaba poder servirse de los AcM como vectores para vehiculizar una toxina (por ejemplo ricino) o un cuerpo radioactivo o para atraer el complemento y así destruir las células cancerosas respetando el tejido normal peritumoral. Era la "magic bullet". ¡Ese era el sueño! **(Figuras 36–37)**. Pero ha sido preciso matizar que "in vivo" no es lo mismo que "in vitro". **La mayor parte de los tumores no exprimen Ag específicos en su superficie.** Además, su mala vascularización impide la difusión de los AcM (la IgG difunde mejor que la IgM por ejemplo).

**Figura 36**: La "magic bullet": El AcM (simbolizado por una bala) suponiendo que es específico para el Ag del cancer (verde). Está encargado de llevar una sustancia radioactiva, fijada al fragmento Fc del AcM ❷, contra el cancer ❸, y así lo destruirá ❹.

## EL SUEÑO DEL INVESTIGADOR

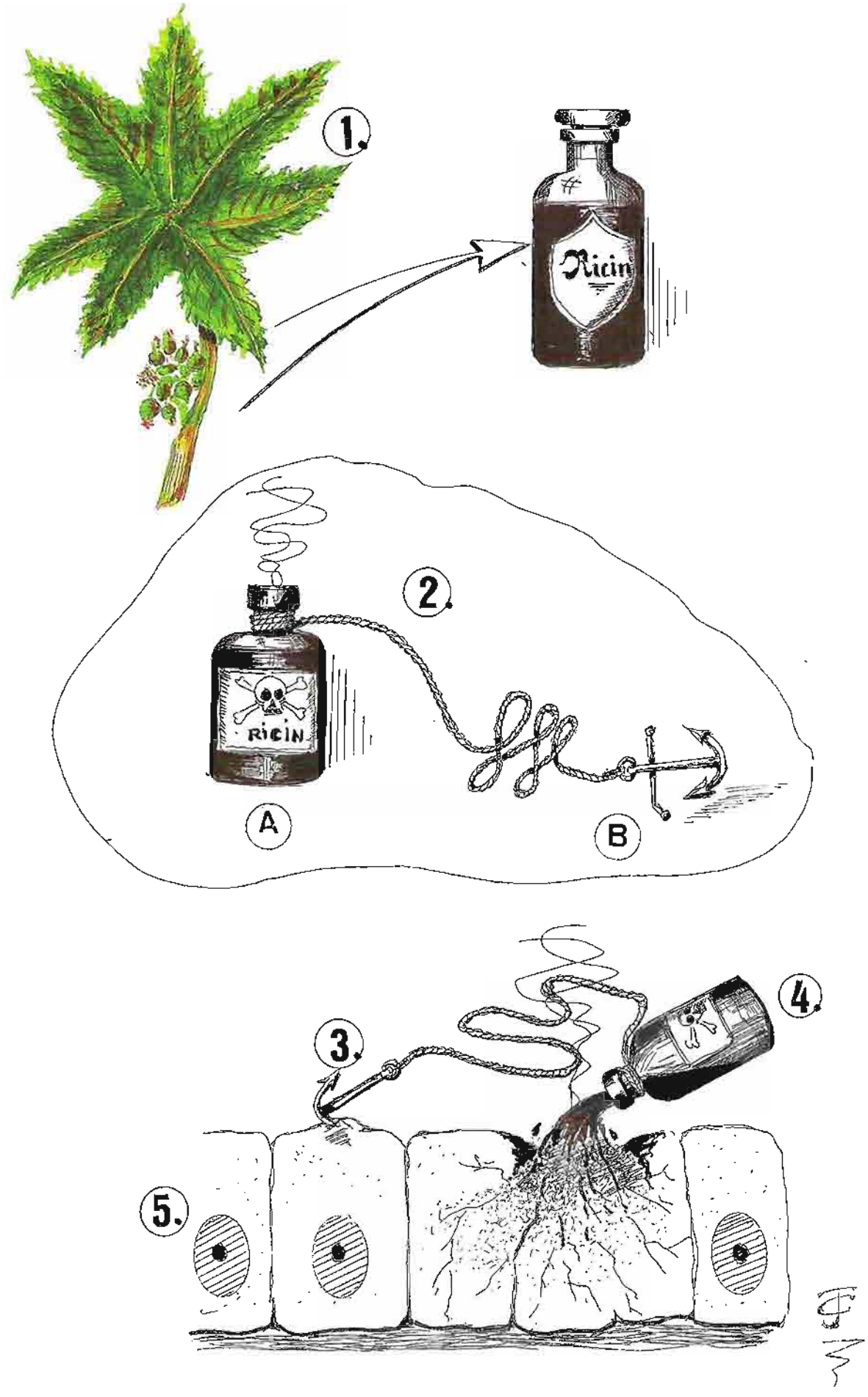



Figura 37

**Figura 37**: Otro sueño del investigador: acoplar un AcM específico de la célula cancerosa a una toxina. Utilizando la toxina del ricino ❶ acoplada a un anticuerpo AcM ❷ se permite anclar este conjugado ❸ ❹ sobre las células a destruir ❺.

**(A)** esquematiza la parte activa tóxica del ricino. **(B)** esquematiza la molécula de AcM que ancla el ricino a los tejidos.

Sin embargo, la realización de estos sueños se encuentra con numerosas dificultades. Una parte de los AcM es captada de forma no específica por los macrófagos provocando lo que se llama el "ruido de fondo" que perturba considerablemente las imagenes cintigráficas. El paciente desarrolla a menudo reacciones contra el propio AcM o contra proteinas extrañas que contaminan el AcM,sí este ha sido elaborado en animales o en cultivos contaminados por diversas proteinas. Una parte de los AcM es así mismo captada por los Ag circulantes liberados por células tumorales necrosadas que se han desprendido del tumor. Además, la afinidad de los AcM es a menudo baja. Todas estas razones hacen que la realidad sea con frecuencia menos prometedora que la teoría.

Los detalles concernientes a las técnicas de los AcM están fuera del ámbito de este libro.

# ANTICUERPOS QUIMERICOS

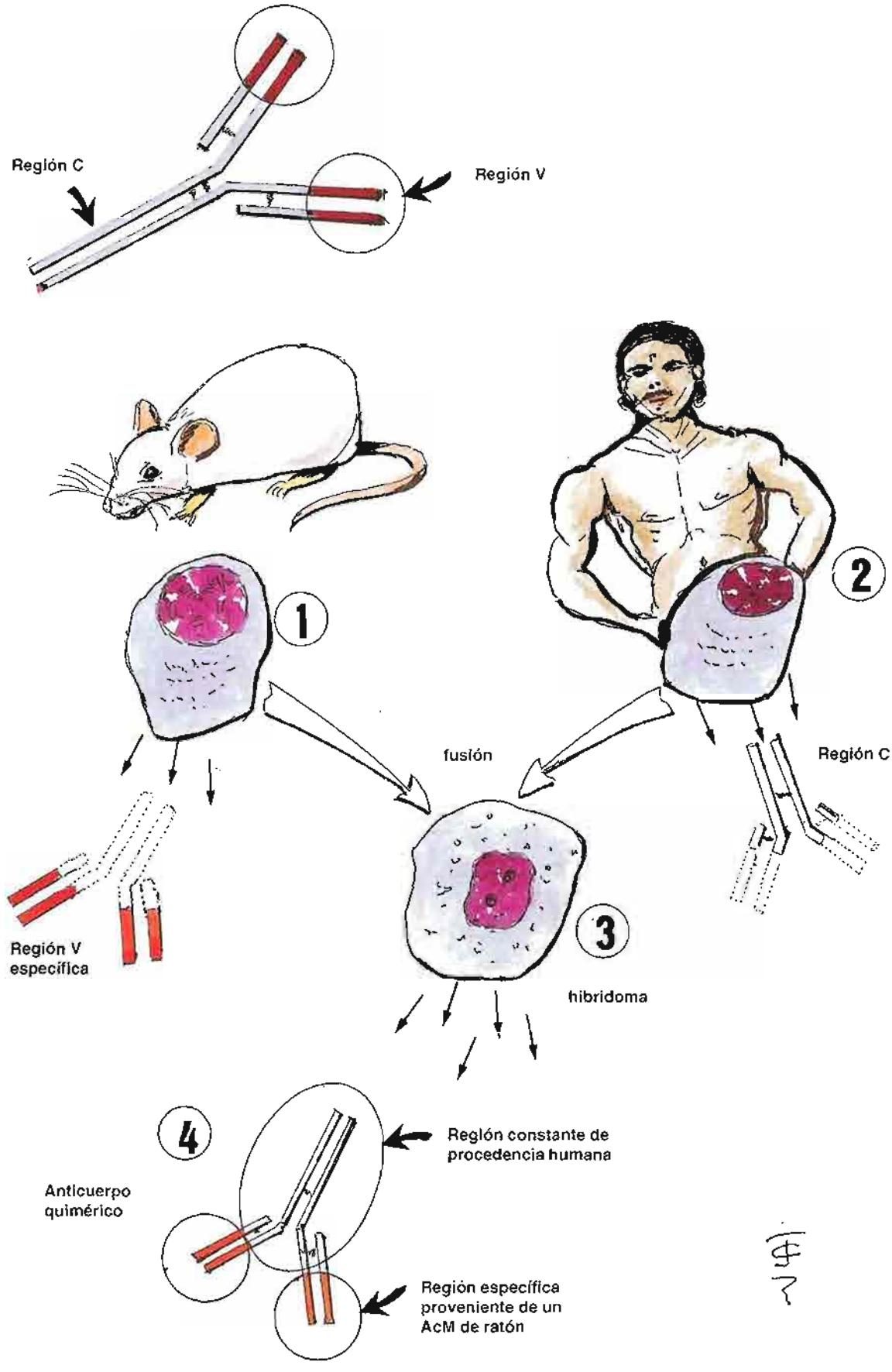



Figura 38A

## 1.10.5. Anticuerpos quiméricos y clonaje del genoma

Las técnicas de biología molecular permiten crear moléculas llamadas "quiméricas", por alusión a los animales imaginarios de la mitología que poseen miembros pertenecientes a varias especies animales.

La creación de quimeras puede efectuarse de varias maneras.

Por ejemplo por:

a) la fusión de células que producen fragmentos de anticuerpos diferentes (por ejemplo hibridomas entre células B de ratón y de hombre) **(Fig. 38 A)**;
b) la unión "in vivo" de génes o de fragmentos de ADN, seguidos de su multiplicación por PCR (Polymerase Chain Reaction), transcripción en ARN y expresión bajo la forma de una proteina por un vector apropiado (por ejemplo Escherichia Coli) **(Fig. 38 B)**. Este procedimiento se describe más detalladamente en el capitulo 4.1. Alergenos recombinantes.

**Figura 38 A:** Aplicado a los anticuerpos quiméricos, es también posible producir anticuerpos mixtos ratón/hombre, cuyas zonas variables de los anticuerpos que determinan su especificidad (CDR: Complementarity Determining Region) provienen de un anticuerpo monoclonal de ratón ❶ bien definido en el que la zona constante de la molécula de inmunoglobulina es de procedencia humana ❷. De esta manera ❸, es posible obtener anticuerpos quiméricos ❹ muy diferentes de gran afinidad, eventualmente contra antígenos que no se pueden inyectar al hombre, pero que son muy similares a los anticuerpos humanos y no serán rápidamente rechazados como es el caso de los anticuerpos completos de ratón inyectados al hombre de forma repetida.

La **carga genética** puede definirse como el conjunto de genes que un individuo posee y que le permite producir una gran variedad de anticuerpos de especificidad y afinidad muy diversas. El procedimiento consistente en clonar las inmunoglobulinas que constituyen este genoma **("repertoire cloning")** se desarrolla por completo "in vitro" y permite literalmente producir cualquier tipo de anticuerpo sin intervención de un animal productor.

# PRINCIPIO DE CLONAJE DE UNA INMUNOGLOBULINA (Ig) ESPECIFICA

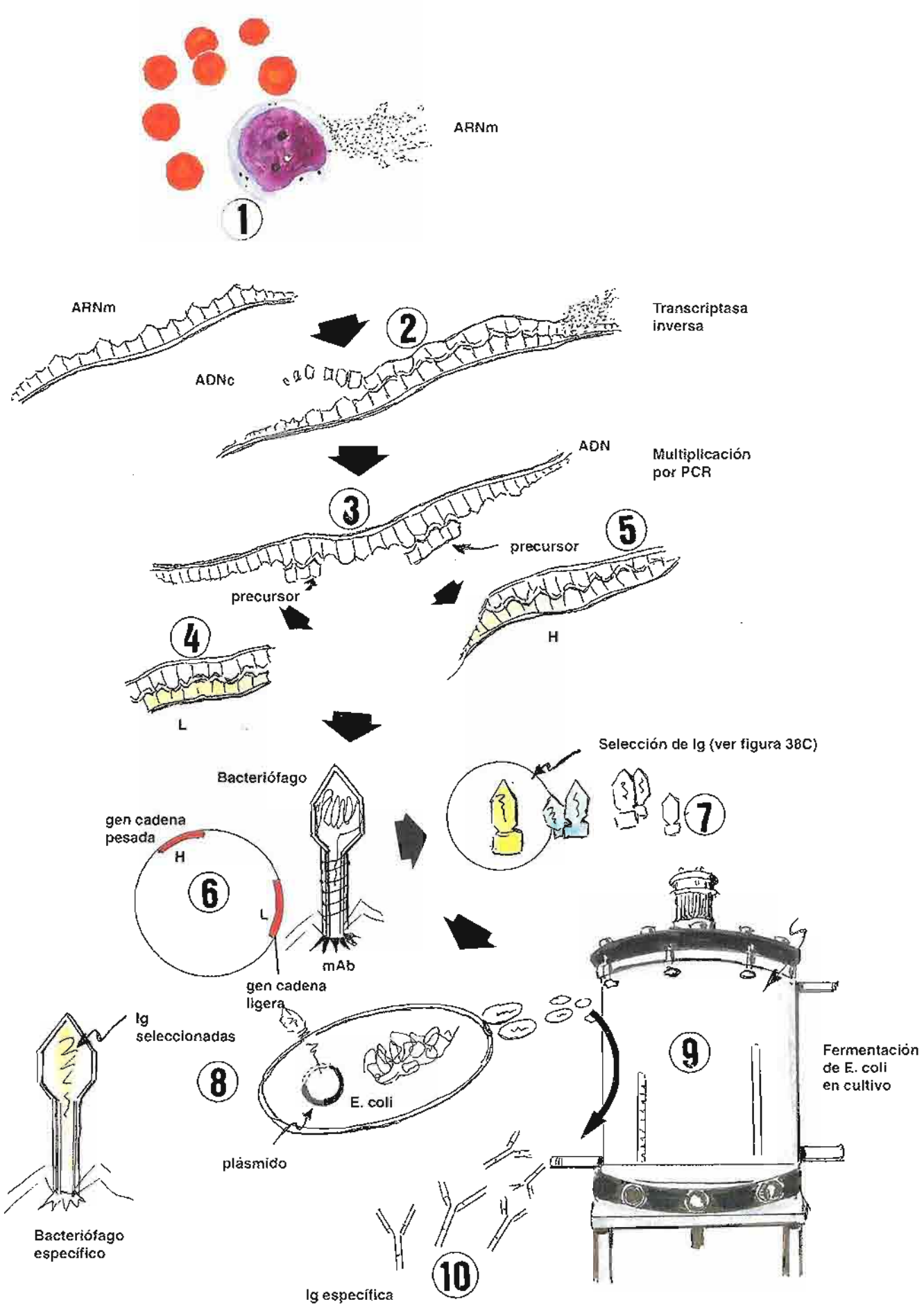



Figura 38B

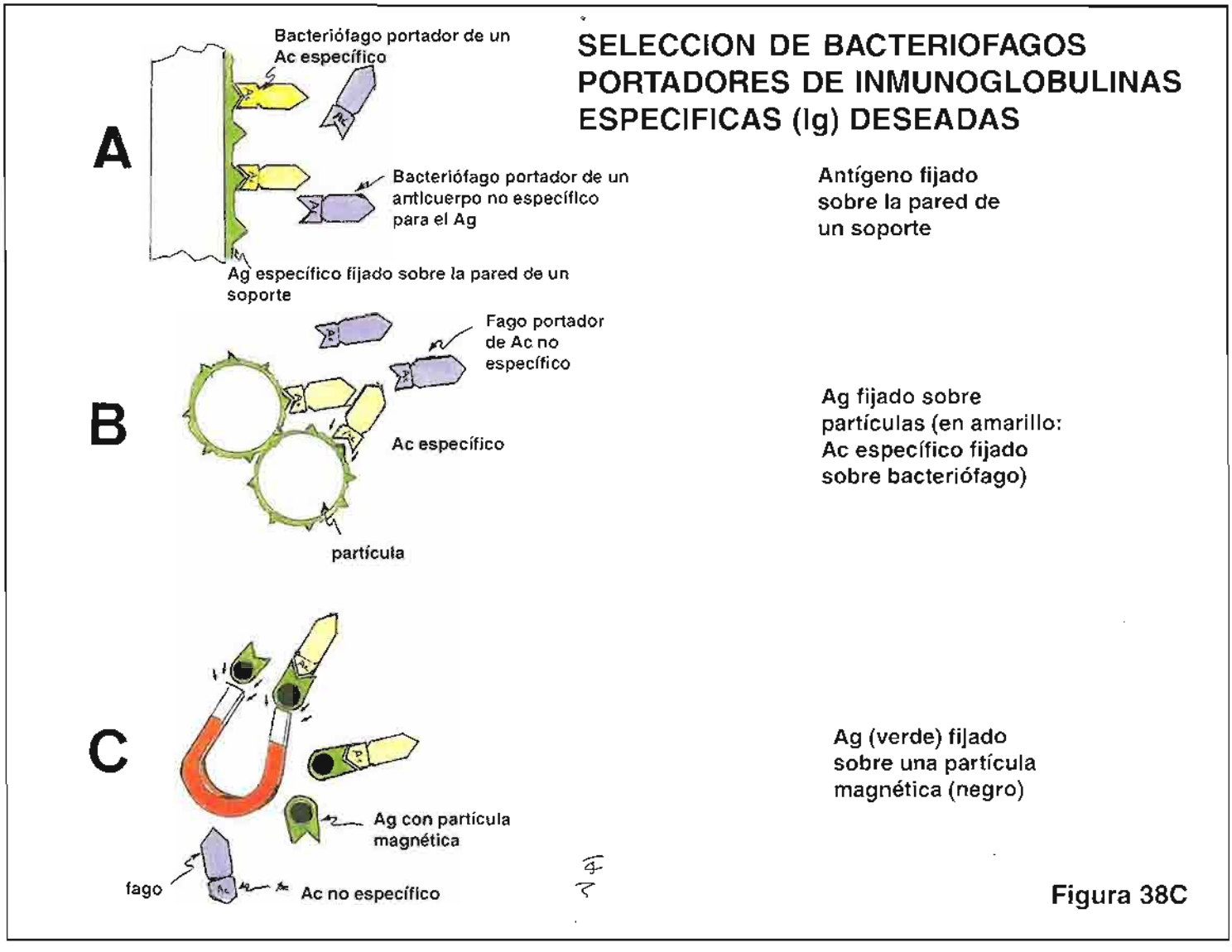



Figura 38C

**Figura 38 B:** En un principio el ARN mensajero (mRNA) total de los linfocitos humanos B es extraido de la sangre ❶. A partir de este ARN mensajero, se traducen y sintetizan (transcripción) ❷ las cadenas de ADN correspondientes, gracias al enzima "transcriptasa inversa". A partir de esta mezcla de genes y cadenas de ADN se produce la multiplicación, de manera muy selectiva, de las cadenas ADN correspondientes a las cadenas pesadas (H) y ligeras (L) de las inmunoglobulinas. Este procedimiento de selección se produce gracias a **precursores** definidos ("primers") que permiten la multiplicación de las cadenas de ADN seleccionadas en el curso del proceso llamado **PRC (Polymerase Chain Reacction)** ❸.

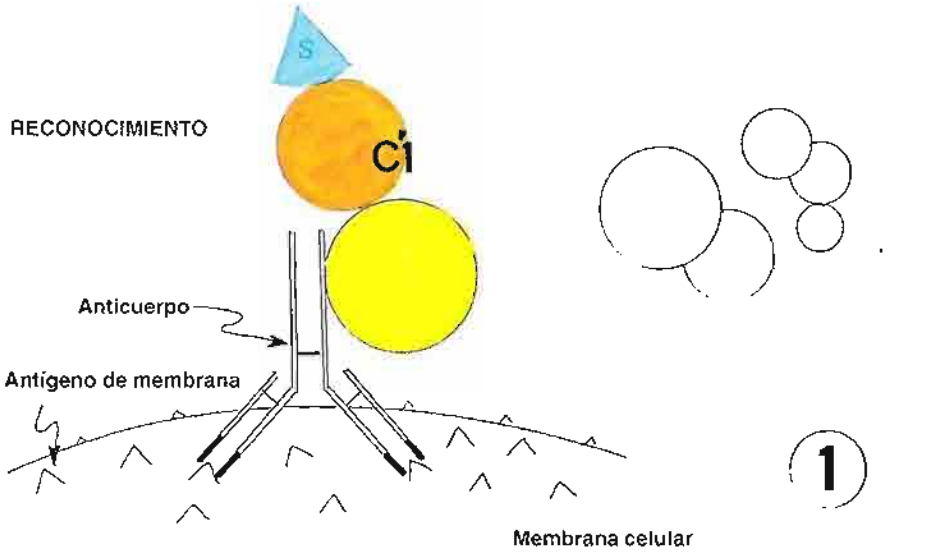
Con el fín de poder selecionar no sólo el conjunto de inmunoglobulinas, sino las que son específicas para un antígeno determinado ❹ ❺, los genes multiplicados por PCR son introducidos en el genoma de un bacteriófago, por ejemplo del tipo p Comb 3 ❻. Este bacteriófago recombina los genes de las cadenas H y L y exprime una sóla molécula de inmunoglobulina sobre la pared del bacteriófago.

Poniendo estos bacteriófagos, que al principio aparecen como una mezcla de inmunoglobulinas que poseen todas las especificidades contenidas en el genoma, en contacto con el antígeno es posible selecionar los bacteriófagos que contienen inmunoglobulinas específicas para este antígeno mediante técnicas de inmunoabsorción descritas más detalladamente en la **Figura 38 C**. Estos bacteriófagos específicamente selecionados se multiplican en cultivos y son purificados por varios ciclos de adhesión al antígeno (procedimiento de "panning") seguido de multiplicación.

Al final, cuando no quedan más que los bacteriófagos estrictamente específicos para el antígeno, se introducen sus genes en un vector apropiado **(Figura 38B)** ❼ (por ejemplo Escherichia coli, levadura, células) que producirá en un cultivo, dentro de un fermentador ❽ las proteinas correspondientes en grandes cantidades ❾, en el caso particular de los anticuerpos humanos son muy parecidas a los anticuerpos naturales.

Si bien esta técnica está dando sus primeros pasos ha permitido ya producir anticuerpos humanos potencialmente utilizables para la terapia, tales como anticuerpos antitetánicos o anti-Rhesus para la prevención de la eritroblastosis fetal. Una aplicación industrial podría revolucionar la terapia con inmunoglobulinas, basada hasta ahora en las donaciones de sangre y el fraccionamiento del plasma.

# COMPLEMENTO



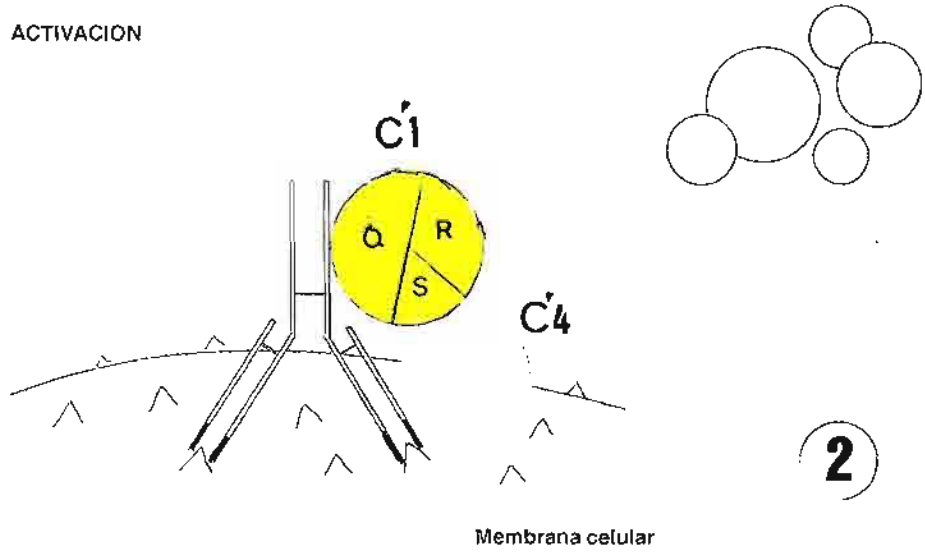




Figura 39

# 11. Complemento

El **complemento** o **sistema del complemento**, esta formado por un conjunto de nueve proenzimas presentes en la sangre bajo forma no activa **(Figuras 39–40)**. Estos se denominan C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9. Estas moléculas tienen pesos moleculares entre 79.000–400.000. Su concentración en el suero es muy variable de una a otra: C3 es la más abundante con 1300 µg/ml. C6, C7, C8 y C9 son las menos abundantes con una cantidad del orden de 1 µg/ml. C1 se compone de tres moleculas: C1q, C1r y C1s, que se mantienen unidas entre sí por un ión de calcio, con + 50 µl/ml por cada componente.

Este conjunto C1 presenta 6 sitios de fijación. Las reacciones moleculares del complemento son relativamente complicadas y pertenecen a un campo más especializado.

**El complemento juega un papel primordial en los mecanismos de defensa y en la inflamación.** Puede intervenir por la llamada **vía alternativa** cuando se produce la intrusión de un antígeno, mucho antes de que otros mecanismos hayan tenido tiempo de movilizarse. Este hecho junto con las defensas mecánicas constituyen **una de las primeras lineas de defensa. Amplifica también considerablemente ciertos mecanismos inmunitarios específicos**, bien sea en sentido favorable o en sentido patológico (por ejemplo el fenómeno de Arthus). La reacción del complemento es una reacción en cascada, es decir secuencial como la de la coagulación sanguinea. El primer elemento activo actua sobre el siguiente y así sucesivamente y siempre en el mismo orden: C1, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9 (el orden de denominacion es debido a la cronología del descubrimiento de los diversos elementos y no al orden de reacción). Está reacción en cascada se llama **"fijación del complemento".**

El organismo dispone de **inhibidores** que pueden actuar a diferentes niveles modulando e impidiendo posibles reacciones violentas o incontroladas que pudieran resultar catastróficas.

El sistema del complemento puede accionarse por múltiples desencadenantes como endotoxinas, inmunocomplejos, fragmentos Fc de las IgG 1, 2 y 3, IgM, etc., por mecanismos mal conocidos posiblemente relacionados con modificaciones de estructuras estereoquímicas.

**Existen dos vias de activación del complemento:**

1. **la llamada vía" clásica":** los nueve componentes son activados secuencialmente empezando por el C1.
2. **la llamada vía "alternativa":** los componentes C1, C4 y C2 son evitados y la reacción comienza en el C3. El mecanismo se desencadena por estímulos no inmunológicos como proteasas, endotoxinas, plasmina, etc.

**Es esta la vía que interviene precozmente en la defensa antes de la aparición de los anticuerpos.**

Las **Figuras 39–40** esquematizan a "grandes rasgos" los acontecimientos esenciales (¡no es posible representar de manera aceptable las reaciones fisicoquímicas tan complejas!).

Se distigen **tres fases:** a) fase de reconocimiento, b) fase de activación y c) fase de ataque a la membrana.

a) **Fase de reconocimiento: Figura 39 ❶** una Ig reconoce un lugar antigénico y se fija por su fracción Fc. El primer elemento del complemento C1 (circulo amarillo) se fija sobre la fracción Fc de la Ig y se convierte en un enzima activo.

b) **Activación:** en **❷** se ve el C1 compuesto por tres subunidades C1q, C1r y C1s. Es por la C1q por la que el C1 se une a la Fc de la Ig. En este momento el lugar de unión C1 se libera y fija C4 sobre la membrana celular. Esta combinación debe ser instantanea o sino no se llevará a cabo. En la **Figura 40 ❸**, C4 fija C2 y va a formar el complejo C4–C2 llamado **C3 convertasa**. C2 puede liberar un polipéptido que si no es rápidamente neutralizado puede provocar un edema de Quincke. Algunos individuos carecen del inhibidor necesario para neutralizar esta reacción. Son los sujetos aquejados del edema de Quincke congénito o familiar.

# ACTIVACION DEL COMPLEMENTO

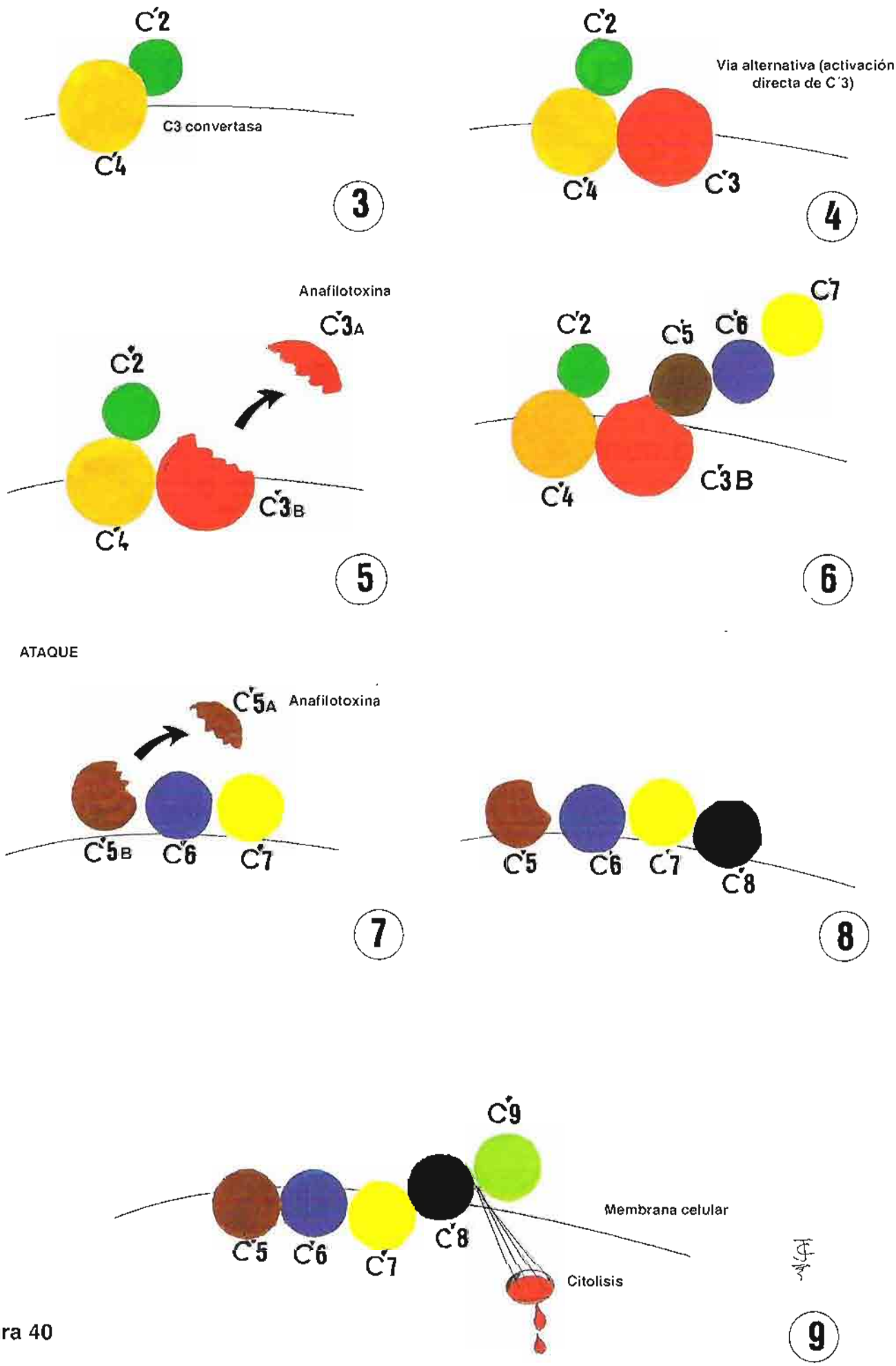



Figura 40

En este momento, miles de moléculas son activadas a partir de la molécula C1 – **Figura 40** ❹ ❺. Hay una **amplificación**.

C4 y C2 van a activar al componente C3. La membrana se recubre de C3. El fenómeno se para instantaneamente si los contactos no se producen muy rápidamente (es uno de los sistemas de seguridad). **C3 es el componente mayor.** Varias moléculas de C3 son activadas y el C3 se escinde en **C3 a** (4%) y **C3 b** (96%). **C3 a es una anafilatoxina** susceptible de degranular los mastocitos y basófilos, de provocar vasodilatación y de actuar como **factor quimiotáctico** para los neutrófilos atrayendolos hacia el lugar del conflicto inmunológico.

En ❻, C3 b se fija en gran cantidad sobre la membrana celular **(inmunoadherencia)** y tiene un **efecto opsonizante** sobre los complejos Ag-Ac.

c) **Fase de ataque**: esta constituida por la fijación de C5, C6 y C7. En ❼ C5 libera un polipéptido C5 a que es también una **anafilotoxina** y un **factor quimiotáctico**. En ❽, el fragmento C5 b fija C6, C7 y C8. Seguidamente en ❾ son activados C8 y C9 apareciendo una **citolisis** (preforación de la mebrana celular) y **hemolisis** (sí la membrana perforada es la de un glóbulo rojo) llamadas inmunes.

En **resumen**: por estos mecanismos complejos, el complemento:

1. libera **anafilatoxinas** que pueden degranular los mastocitos y basófilos, liberandose así potentes mediadores.
2. libera un **factor quimiotáctico** que atrae a los neutrófilos y eosinófilos al lugar del conflicto inmunológico.
3. **opsoniza gracias al C3 b** que se fija al receptor de membrana de algunas células. Esta opsonización permite el reconocimiento por parte de las células fagocitarias.
4. provoca la **lisis de las células**, bacterias y virus.

# LOS CUATRO TIPOS DE REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD (según GELL Y COOMBS)

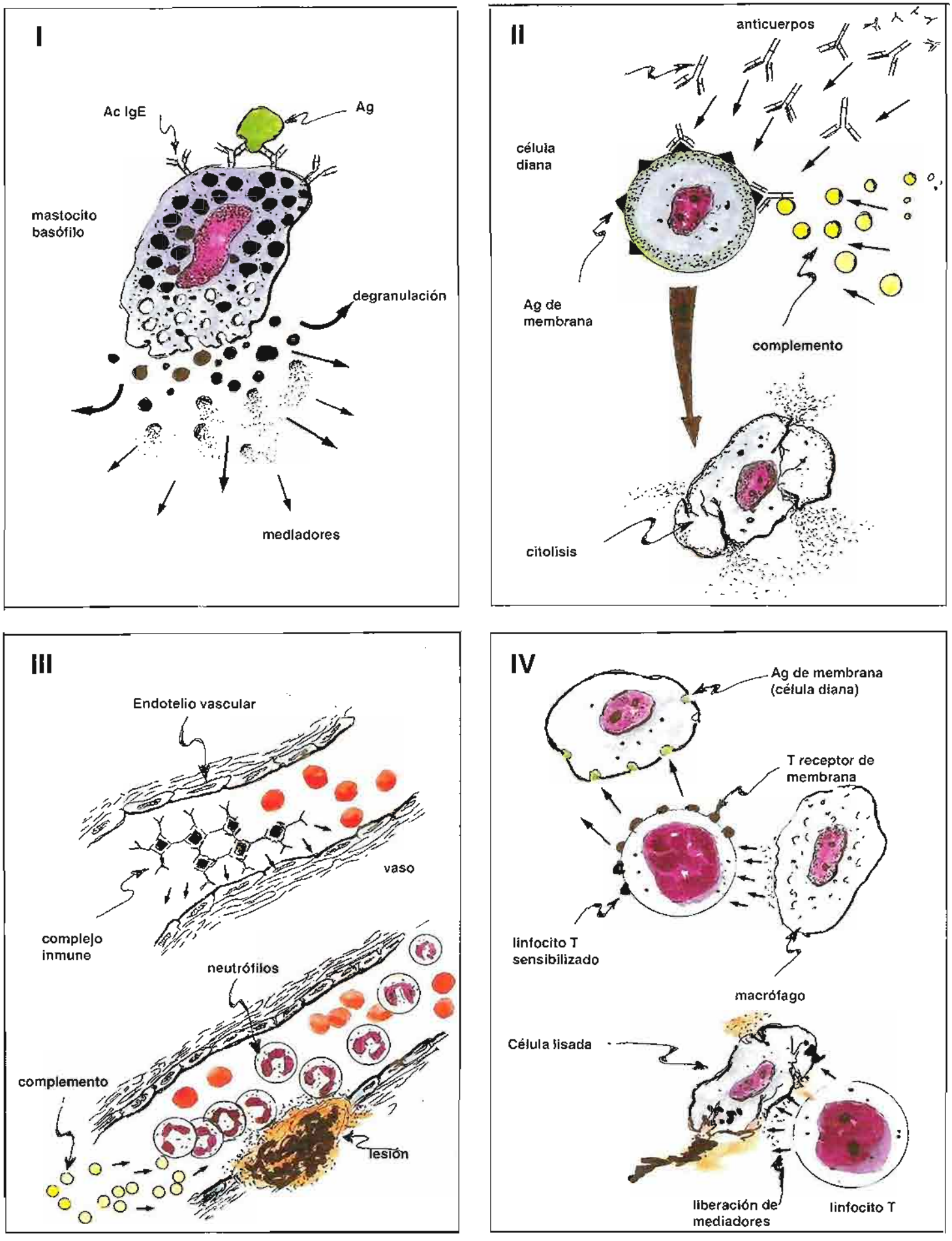



Figura 41

# 1.12. Los cuatros tipos fundamentales de reacciones inmunoalérgicas

## 1.12.1. Generalidades

Hace más de treinta años Gell y Coombs clasificaron ingeniosamente las reacciones inmunológicas en cuatro tipos fundamentales. Posteriormente, con el avance de los conocimientos se ha visto que existen frecuentemente conexiones entre los diferentes tipos. Así pues está clasificación es meramente pedagógica. La realidad patofisiológica es a menudo más compleja.

**Los cuatro tipos de reacciones de hipersensibilidad según Gell y Coombs – Figura 41** son:

- **Tipo I o reacción anafiláctica ❶**. El anticuerpo se fija a la superficie de células especiales: los mastocitos de los tejidos y los basófilos de la sangre: Este anticuerpo se llama **citotropo** o **anafiláctico**. El antígeno reacciona con el anticuerpo fijado sobre la célula diana. La combinación antígeno y anticuerpo sobre la membrana celular desencadena la liberación por parte de las celulas diana, mastocitos y basófilos de potentes mediadores. Estos mediadores dán origen a los fenómenos alérgicos que aparecen inmediatamente después del contacto antígeno anticuerpo.De ahí el nombre de **"hipersensibildad inmediata"** dado al tipo I. Los anticuerpos son inmunoglobulinas **IgE** y en algunas especies son una subclase de IgG (las **"IgG-STS"** o"Short Term Sensitizing Antibodies").
- **El tipo II o reacción citóxica ❷**. En este caso, el anticuerpo IgG o IgM reacciona con el antígeno que está fijado en la membrana de la célula diana, que fundamentalmente son células sanguineas. Se puede tratar de un antígeno completo o de un hapteno. La reacción antígeno – anticuerpo en sí no daña a la célula diana pero puede permitir la intervención de un macrófago. Si interviene el complemento las reacciones se amplifican fuertemente pudiendo llegar hasta la citolisis.
- **El tipo III o reacción por inmunocomplejos ❸**. La reacción antígeno – anticuerpo da lugar a la formación de complejos inmunes circulantes que se depositan en las paredes vasculares o en los glomérulos renales. Los anticuerpos implicados son del tipo IgG e IgM. Los complejos inmunes fijan complemento. Si la reacción está localizada se produce una reacción local violenta llamada **fenómeno de Arthus**, con trombosis y hemorragia. Si la reacción es generalizada se habla de la **"enfermedad del suero"**. La reacción aparece en general algunas horas trás el contacto lo que le ha dado el nombre de **"hipersensibilidad semiretardada"** (la enfermedad del suero aparece fundamentalmente después de la injección de suero de caballo antitoxina en la difteria o el tétanos).
- **El tipo IV o reacción mediada por células ❹**. En este tipo de reacción la causa no es un anticuerpo circulante en el suero. La reacción se produce desde el principio entre el antígeno y el linfocito sensibilizado. A partir de esta reacción, el linfocito libera **mediadores** solubles dotados de multiples propiedades. La reacción se produce de forma lenta, entre 24–48 horas. Se habla de **"hipersensibilidad retardada"** o por comparación **"hipersensibilidad de tipo tuberculínico"**, ya que el test de la tuberculina es el prototipo de la reacción de tipo IV.

En las enfermedades autoinmunes, los tipos II, III y IV pueden intervenir de forma aislada o asociados.

Vamos a ver estos diferentes tipos en detalle.

# HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO I

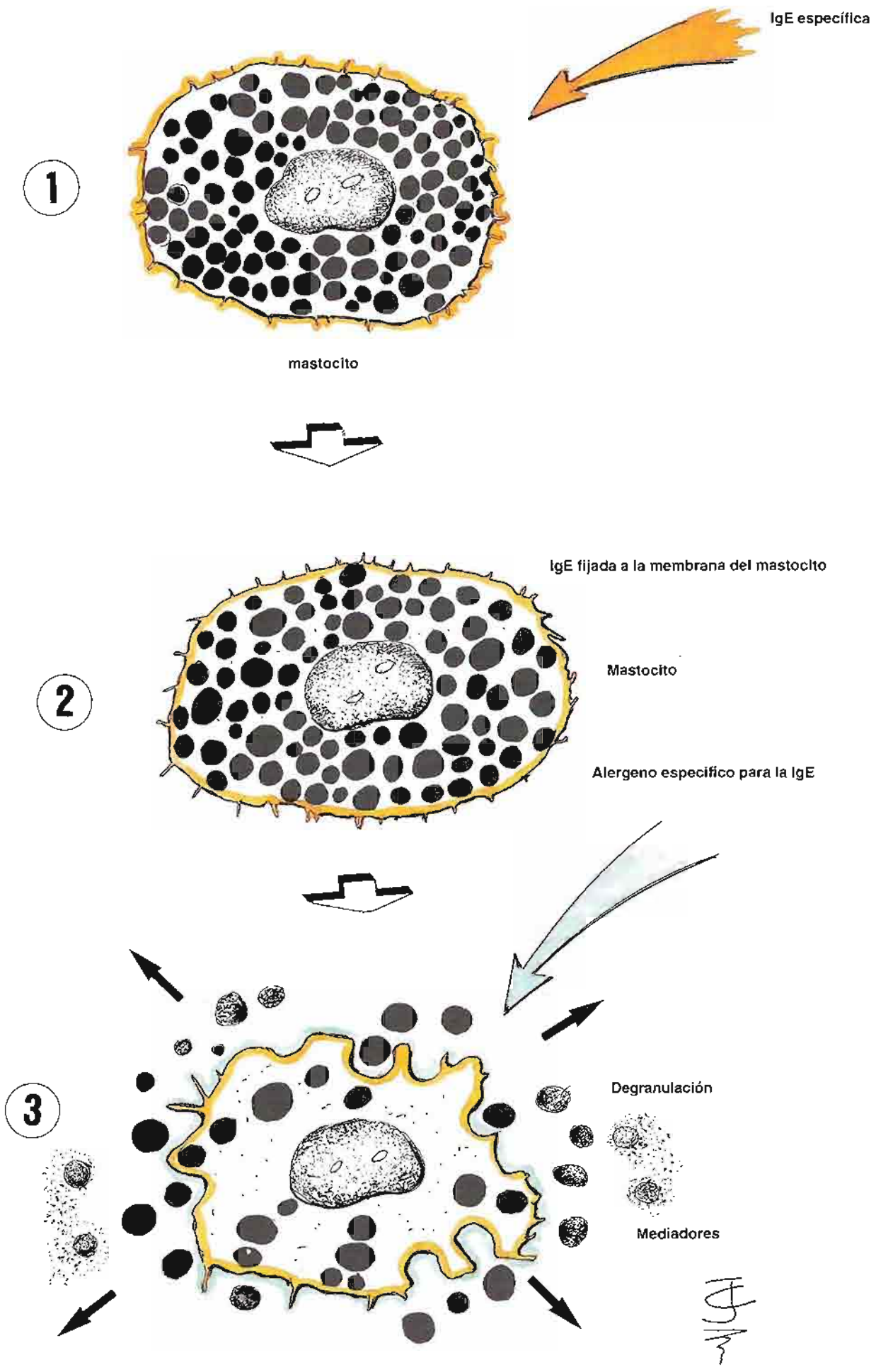



Figura 42

## 1.12.2. Reacción de hipersensibilidad inmediata o tipo I (según Gell y Coombs) o reacción anafiláctica

En esta reacción, llamada anafiláctica,intervienen tres elementos **(Figura 42)**

1. el **mastocito** de los tejidos o su equivalente en la sangre, el **basófilo**. Es la célula diana.
2. las inmunoglobulinas **IgE** específicas.
3. **el alergeno** específico para la IgE.

**Los individuos llamados atópicos o alérgicos sintetizan especialmente anticuerpos IgE por razones genéticas.**

En ❶ el mastocito o el basófilo conteniendo grandes y numerosos gránulos. La flecha indica el contacto con la **IgE específica** (también llamada **anticuerpo reagínico**). En ❷ la IgE está fijada a la membrana del mastocito por un receptor de fuerte avidez (FcεRI). La IgE es llamada citófila o citotropa porque se fija a la célula diana. Cuando se encuentra en el paciente 100 ng/ml de IgE en el plasma, se estima que debe haber 4000 moléculas de IgE fijadas por basófilo. En ❸, se ve lo que sucede al producirse el contacto con el alergeno (flecha verde).Los gránulos de los mastocitos o de los basófilos salen de la célula sin destruirla. Es el **fenómeno de degranulación**. Estos gránulos contienen **mediadores** muy potentes,especialmente histamina y heparina. Además numerosos mediadores de nueva formación, tales como el leucotrieno C4 (LTC 4) son igualmente liberados.

El mecanismo tipo I es el responsable de las enfermedades siguientes:

- asma alérgico
- rinitis alérgica estacional o periódica
- fiebre del heno
- urticaria aguda
- shock anafiláctico (sobre todo por picaduras de himenópteros, por penicilina y por otros medicamentos). Hay que destacar que en el caso de los medicamentos, el mecanismo de tipo I es a veces supuesto pero no siempre demostrado.
- algunos trastornos digestivos se manifiestan como un edema de Quincke (hinchazón importante de la cara), como una urticaria, en forma de vómitos, etc., y sugieren un mecanismo de tipo I.

Además del mecanismo mediado por los anticuerpos IgE, numerosos factores no específicos son susceptibles de desencadenar la degranulación del mastocito produciendo una **liberación de histamina** masiva, como ejemplo la hipersensibilidad al frio, la urticaria solar, la urticaria por el calor, el dermatografismo,la reacción a ciertos medicamentos (por ejemplo opiaceos, aspirina). Cuando se produce una liberación de estos mediadores por parte de mastocitos y basófilos sin que esten implicadas las IgE específicas, se habla de **reacciones pseudoalérgicas**. La degranulación puede ser igualmente desencadenada de forma no específica por **factores liberadores de histamina** producidos por otras células activadas, como los linfocitos T o monocitos **(Figura 48)**.

# MEDIADORES DEL MASTOCITO

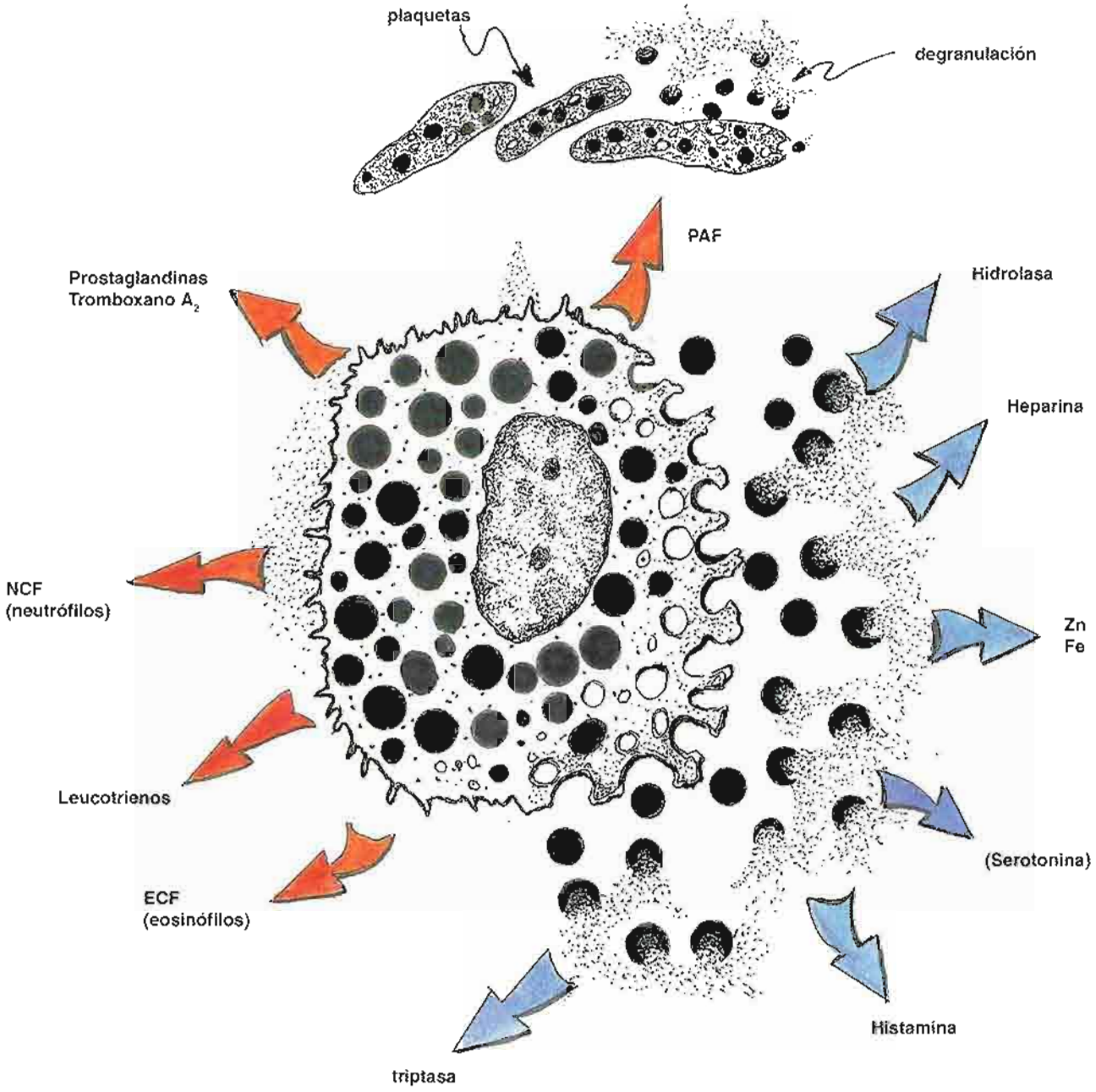


Figura 43

### 1.12.2.1. Los mediadores de la hipersensibilidad inmediata (tipo I)

Al producirse una reacción inmune, mastocitos y basófilos liberan mediadores que producen tres efectos diferentes: inflamación, bronconstricción y quimiotactismo.

Se distingen **(Figura 43)**:

A. Por un lado los **mediadores contenidos en los gránulos**, que son liberados en el momento de la degranulación: (flechas azules, **Fig. 43**).

- **Histamina**: aumenta la permeabilidad vascular, provoca la contracción del músculo liso, tiene una acción quimiotáctica para los eosinófilos, estimula la síntesis de las prostaglandinas, estimula el sistema parasimpático y la secreción de moco. Su acción es breve. Es inhibida por los antihistamínicos del tipo H1 y en menor medida por los del tipo H2.
- **Serotonina**: provoca la contracción de los músculos lisos y aumenta la permeabilidad vascular. Su papel es menos importante en el hombre que en otras especies animales.
- **Heparina**: anticoagulante.
- **Diversas enzimas** como la hidrolasa y la triptasa que activan el C3 (actividad bloqueada por la heparina).

B. Por otra parte, algunos **mediadores aparecen rápidamente al mismo tiempo que la degranulación** pero no están ligados a los gránulos (flechas rojas, **Fig. 43**).

- **Prostaglandinas** entre las cuales la PGF2 alpha y PGD2 contraen el músculo liso bronquial, mientras que la PGE2 dilata el músculo liso.
- **Leucotrienos C4, D4 y E4** constituyen la antigua **SRS-A** (Slow Reacting Substance of Anaphylaxis). Producen una contracción intensa del músculo liso bronquial, aumentan la permeabilidad vascular y facilitan la migración de las células inflamatorias.

Prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos son todos ellos mediadores de la inflamación derivados del metabolismo del ácido araquidónico. Se agrupan bajo el término de **eicosanoides**.

El **PAF** induce la activación de las plaquetas que liberan por su parte un cierto numero de mediadores que agraban la reacción alérgica, sobre todo un mediador fuertemente quimiotáctico para los eosinófilos.El PAF puede así mismo estimular directamente ciertas células inflamatorias (por ejemplo basófilos y eosinófilos).

Citaremos además un cierto número de **factores quimiotácticos** tales como **LTB 4, ECF** y **NCF**. **El ECF** es un factor quimitáctico para los eosinófilos que se encuentra entre otros en la anfilaxia. **El NCF** es un factor quimiotáctico para los neutrófilos.

La Bioquímica de estos mediadores es extremadamente compleja, ya que actuan unos y otros bien incrementando o frenando las reacciones biológicas.

Los factores quimitácticos producen la migración de células tales como neutrófilos, eosinófilos y macrófagos al lugar donde se produce la reacción antígeno anticuerpo.

Por su parte estas células que poseen también receptores para las inmunoglobulinas, pueden ser estimuladas y liberar gran variedad de mediadores susceptibles de favorecer el desarrollo de un estado inflamatorio así como la aparición de lesiones tisulares, particularmente durante la fase tárdia de las reacciones de tipo I **(Fig. 48)**.

C. **Los basófilos y mastocitos estimulados** son también capaces de producir al cabo de algunas horas diferentes citoquinas, tales como IL-4, IL-5 e IL-3 que contribuyen a mantener la cronicidad de la inflamación alérgica (ver 1.12.5.).

## HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO II

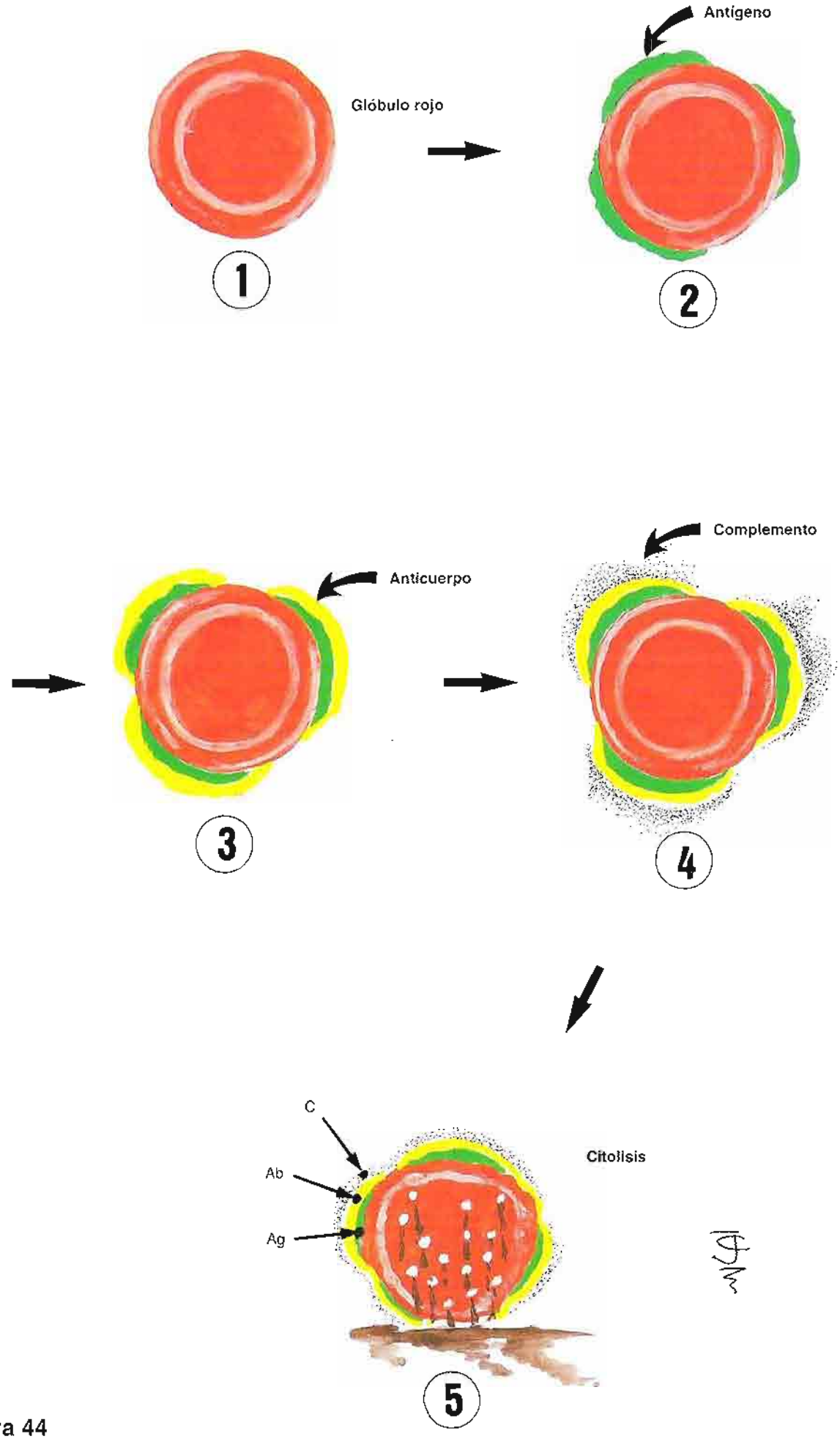



Figura 44

### 1.12.3. Reacción de hipersensibilidad tipo II o reacción citotóxica

En esta reacción (**Figura 44**), el antígeno se adhiere a una membrana celular como por ejemplo la membrana de un glóbulo rojo. Este antígeno puede ser un hapteno, como por ejemplo un medicamento como la cefalosporina, la penicilina, etc.

Al contrario que en el tipo I, no es el antígeno el que desencadena la reacción sino el anticuerpo al fijarse sobre el antígeno que esta fijado a la célula. El anticuerpo responsable es del tipo IgG o IgM.

En la **Figura 44**,se ve ❶ un glóbulo rojo. En ❷, un antígeno fijado sobre su membrana. En ❸ se fija un anticuerpo al antígeno, que esta fijado a su vez a la membrana celular. En ❹ sobre este complejo antígeno-anticuerpo se deposita el complemento que va a desencadenar una violenta reacción de citolisis. En ❺ citolisis con perforación de la membrana celular. Estas perforaciones son visibles al microscopio.

Si el complemento no agrava la reacción, puede haber simplemente una liberación de enzimas lisosomiales,si la célula diana las posee, o opsonización por un macrófago.

Numerosas reacciones inmunes se incluyen en el tipo II. Entre ellas citaremos:

- enfermedad hemolítica del recien nacido.
- reacciones de incompatibilidad de grupos sanguíneos en las transfusiones.
- glomerulonefritis por autoanticuerpos.
- algunas anemias hemolíticas, sobre todo debidas a medicamentos.
- púrpura por hipersensibilidad a medicamentos.
- nefritis nefrotóxica de Masugi.
- agranulocitosis medicamentosa.

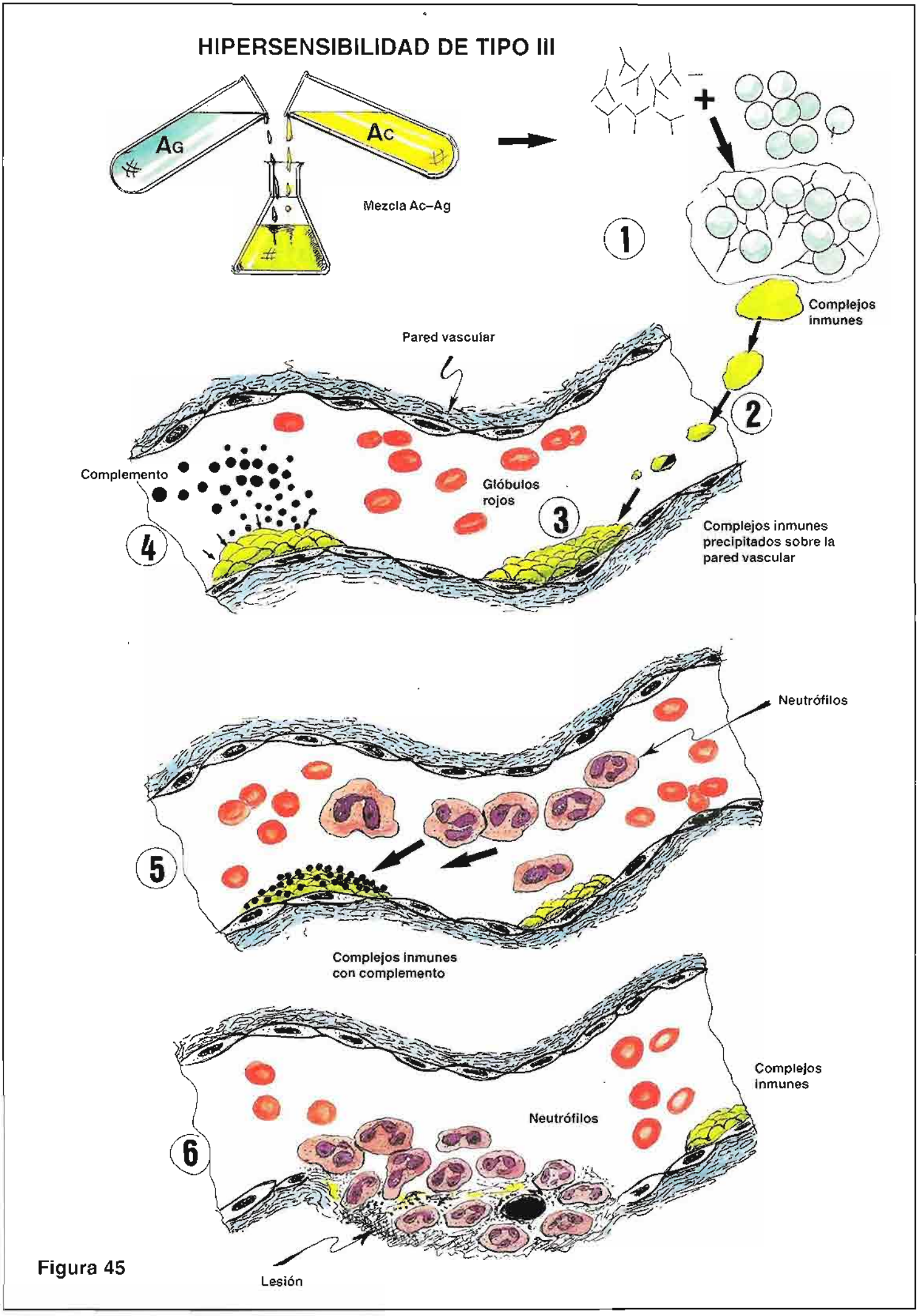

HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO III
Ag
Ac
Mezcla Ac–Ag
1
Complejos inmunes
Pared vascular
2
Complemento
Glóbulos rojos
3
4
Complejos inmunes precipitados sobre la pared vascular
Neutrófilos
5
Complejos inmunes con complemento
Complejos inmunes
Neutrófilos
6
Lesión

Figura 45

### 1.12.4. Reacción de hipersensibilidad tipo III o reacción por complejos inmunes

En la reacción de tipo III, hay formación de complejos antígeno-anticuerpo circulantes precipitantes, llamados **complejos inmunes** o IC.

La **Figura 45** muestra el desarrollo de este mecanismo.

En ❶ vemos los antígenos y los anticuerpos formando inmunocomplejos (IC) conteniendo varios antígenos o varios anticuerpos. Los anticuerpos son bivalentes,del tipo IgG, lo que les permite "enganchar" varios antígenos a la vez. Los complejos ❷ se depositan principalmente en las paredes vasculares❸ o en las membranas filtrantes del riñon. Una vez fijados, atraen al complemento ❹. El complemento atrae a los neutrófilos ❺ fundamentalmente debido a la liberación de anafilotoxinas que son potentes mediadores de la inflamación. Estas anafilotoxinas provenientes del complemento favorecen la degranulación de los mastocitos y de los basófilos liberando por su parte numerosos mediadores muy activos. En el lugar de depósito de los complejos inmunes ❻ aparecen lesiones vaculares con hemorragias, trombosis etc.

Cuando la reacción de tipo III está localizada aparece "in situ" lo que se llama un **"fenómeno de Arthus"**.

# FENOMENO DE ARTHUS

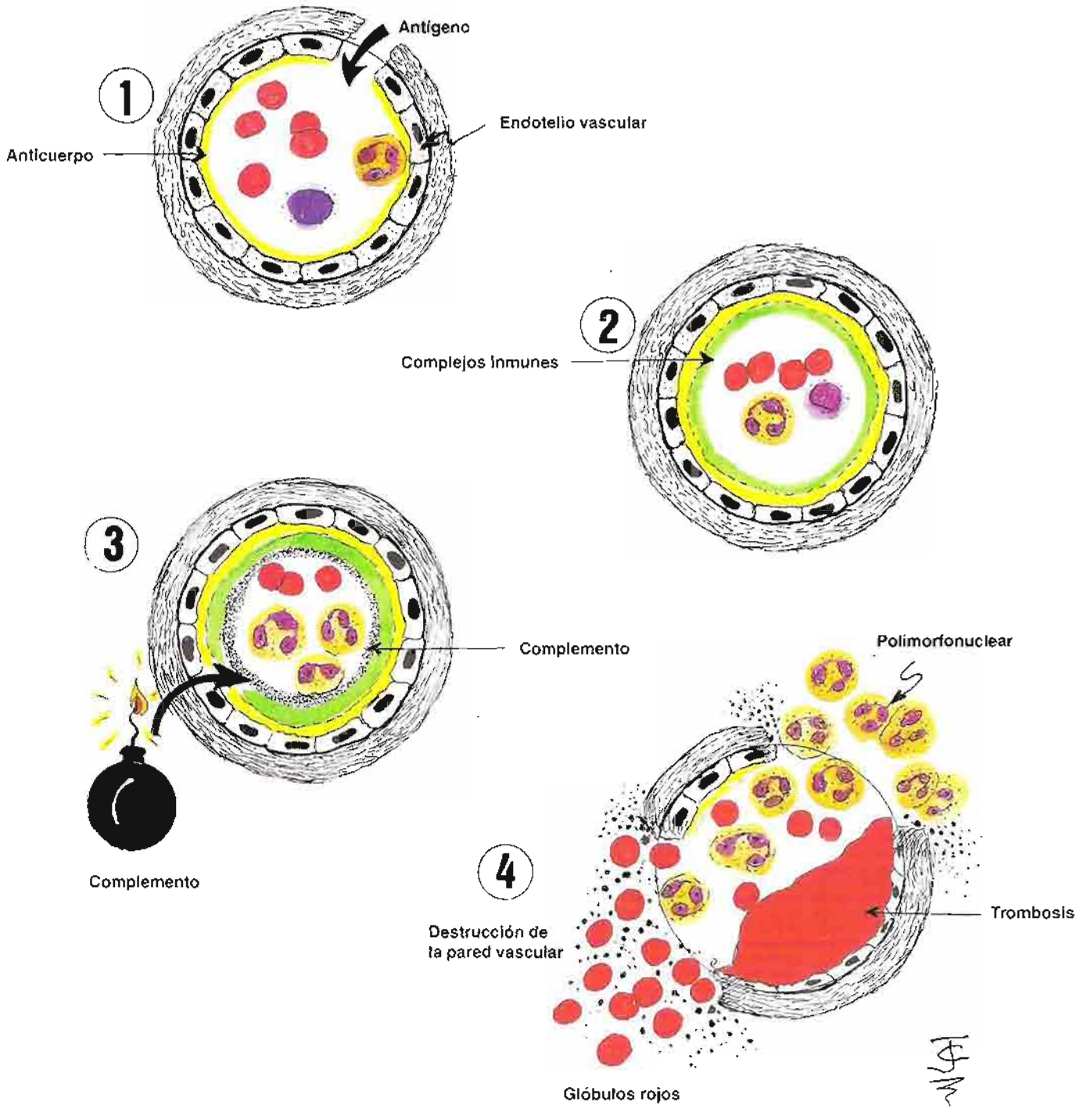



Figura 46

#### 1.12.4.1 Fenómeno de Arthus

El **fenómeno de Arthus** es una reacción alérgica de tipo III. Está localizada en el lugar de inyección subcutanea de un Ag en un sujeto que posea Ac precipitantes específicos contra este Ag. El fenómeno de Arthus se ilustra en la **Figura 46**. En ❶ se ve el anticuerpo fijado sobre la pared vascular. El antígeno llega al vaso y se fija al anticuerpo formandose así un complejo inmune. Este IC va a precipitarse sobre la pared vascular ❷. Sobre el complejo – en ❸ – se fija el complemento que es indispensable para que se produzca la reacción de Arthus. El complemento, enganchado al IC actua como una "bomba".

Libera factores quimiotácticos que atraen a los polimorfonucleares y a otros mediadores de la inflamación. Aparece – en ❹ – una vasculitis con aflujo de polimorfonucleares que liberan enzimas lisosómicas. El resultado es una destrucción localizada de la pared vascular con hemorragia, diapedesis de polimorfonucleares, trombosis, depósito de fibrina, edema localizado,etc.

Las principales **enfermedades** desencadenadas por la reacción de hipersensibilidad de tipo III son:

- enfermedad del suero,
- colagenosis, como el lupus eritematoso,
- glomerulonefritis por inmunocomplejos, como en la malaria,
- inflamación acompañante a la infección por estreptococos,
- vasculitis alérgicas,
- eritema nodoso,
- algunas afecciones sanguineas con hemolisis o trombopenia,
- artritis reumatoide, etc.

Cuando el fenómeno de tipo Arthus es local, da lugar a enfermedades como la **aspergilosis alérgica**, la **enfermedad de los criadores de pájaros**, el **pulmón de granjero**,la fiebre producida por las bacterias que se desarrollan en los **humidificadores**,etc. Algunos medicamentos pueden también provocar reacciones de tipo III, como por ejemplo la penicilina, la fenacetina y la rifampicina.

# REACCIONES DE TIPO IV

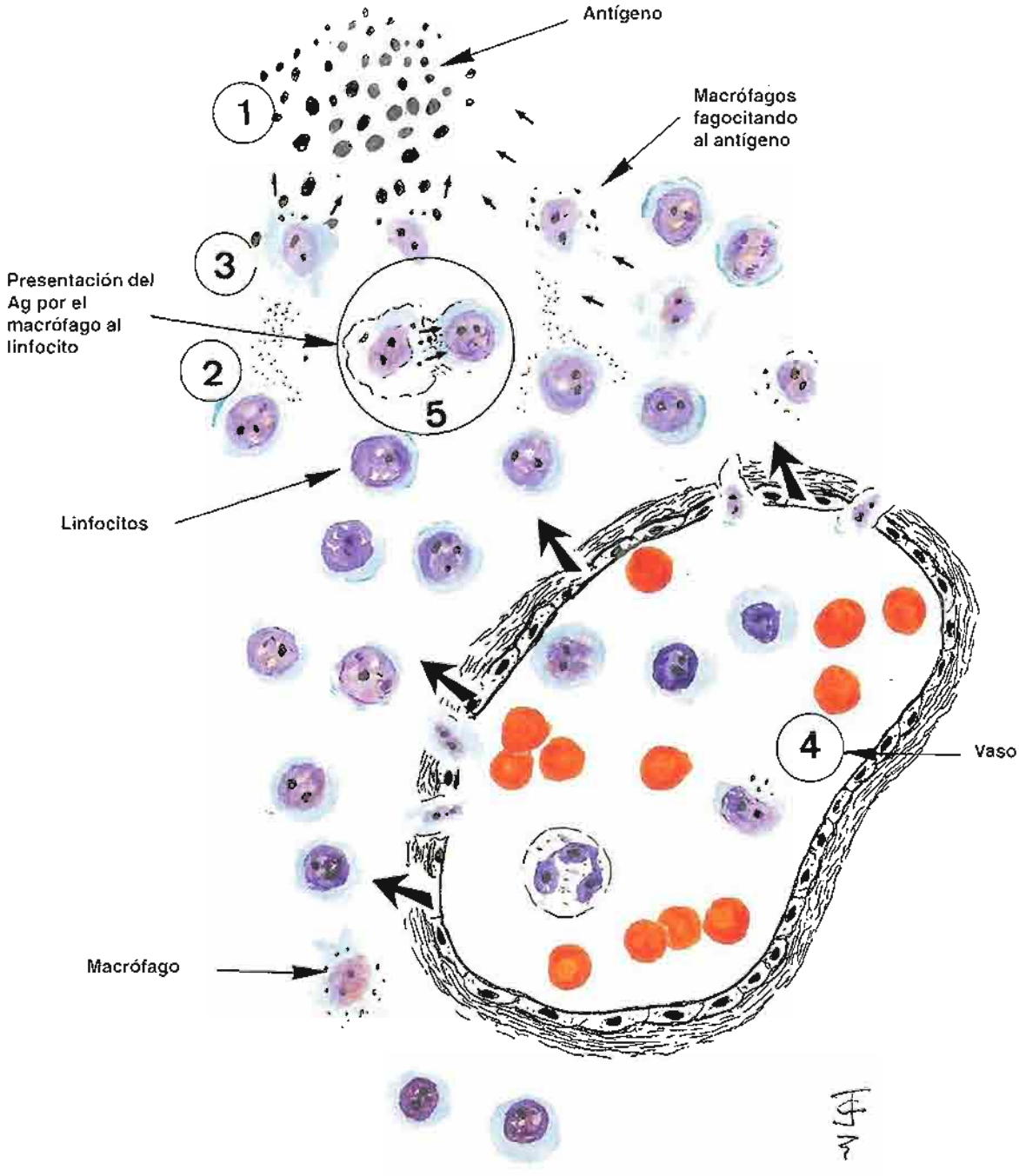



Figura 47

## 1.12.5. Reacción de hipersensibilidad tipo IV o retardada

En este tipo de reacción la causa no es un anticuerpo circulante. La reacción alérgica se debe a un **mecanismo desencadenado por linfocitos.** También se habla de **"hipersensibilidad celular"** o **"hipersensibilidad retardada"** como consecuencia de la aparición tardía de la reacción, entre 24–48 horas después del contacto con el antígeno. El ejemplo más conocido de está reacción es la **reacción tuberculínica**. Trás la injección local de tuberculina en un individuo sensibilizado, la reacción aparece después de 48 horas.

La **Figura 47** muestra un fenómeno alérgico de tipo IV: los antígenos ❶ reaccionan con los macrófagos (en la piel reaccionan con las células de Langerhans) que les presentan a uno u otro linfocito específico sensibilizado ❺. Está reacción produce una primera ola de mediadores quimiotácticos, que atraen al foco a linfocitos no específicos ❷ y a macrófagos ❸. Estos aparecen en "el campo de batalla" provinientes de los vasos sanguineos ❹ de las regiónes colindantes. Al microscopio, se ve un vaso sanguineo rodeado de un cúmulo de células linfocitarias y macrofágicas. En el lugar de unión entre antígenos – células se produce un fenómeno de fagocitosis. Los linfocitos T no específicos atraidos secundariamente al foco liberan mediadores que dirigen la acción de los macrófagos. Estos últimos son atraidos así mismo al foco donde son inmovilizados (intervención del MIF). Los linfocitos T estimulan la fagocitosis y la toxicidad de los macrófagos. Estos últimos por su parte liberan mediadores – algunas interleuquinas – que tienen una acción sobre la proliferación de los linfocitos y su producción de linfoquinas.

Entre las linfoquinas, citaremos las más conocidas: el **MIF** (Migration Inhibitory Factor), factor que produce la inhibición de la migración de los macrófagos. Puede producirse "in vitro".

Hay también un factor quimiotáctico para los macrófagos, un factor estimulador de la fagocitosis y un factor citotóxico capaz de destruir directamente a la célula diana, sin intervención del complemento. Este fenómeno es en general localizado pero puede ser también generalizado (por ejemplo el exantema cutaneo).

Al igual que la reacción observada en la fase tardía de las reacciones de tipo I inducidas por IgE y mastocitos, la reacción retardada de tipo IV es debida a una cascada de interacciones en la que intervienen diferentes células y diversas citoquinas. Sin embargo, en las reacciones de tipo IV, las células participantes en el infiltrado celular son esencialmente mononucleares, es decir linfocitos del tipo Th1 y monocitos.Las linfoquinas implicadas son así mismo del tipo Th1, es decir IL-2 e IFN $\gamma$. La cinética de la reacción es también diferente, ya que alcanza el máximo entre las 24–72 horas en lugar de entre las 6–10 horas. A veces se observa una infiltración secundaria de basófilos, sobre todo en las reacciones cutaneas de tipo IV.

Las enfermedades provocadas por el tipo IV son:
- eczemas de contacto
- defensa contra virus,contra algunas bacterias, contra hongos y contra parásitos
- rechazo de injertos
- enfermedades autoinmunes
- ciertas alérgias a medicamentos.

Es probable que el mecanismo de tipo IV intervenga de forma importante en la vigilancía y eliminación de las células neoplásicas.

# PATOGENIA DE LAS REACCIONES ALERGICAS IMMEDIATAS Y TARDIAS DEPENDIENTES DE IgE

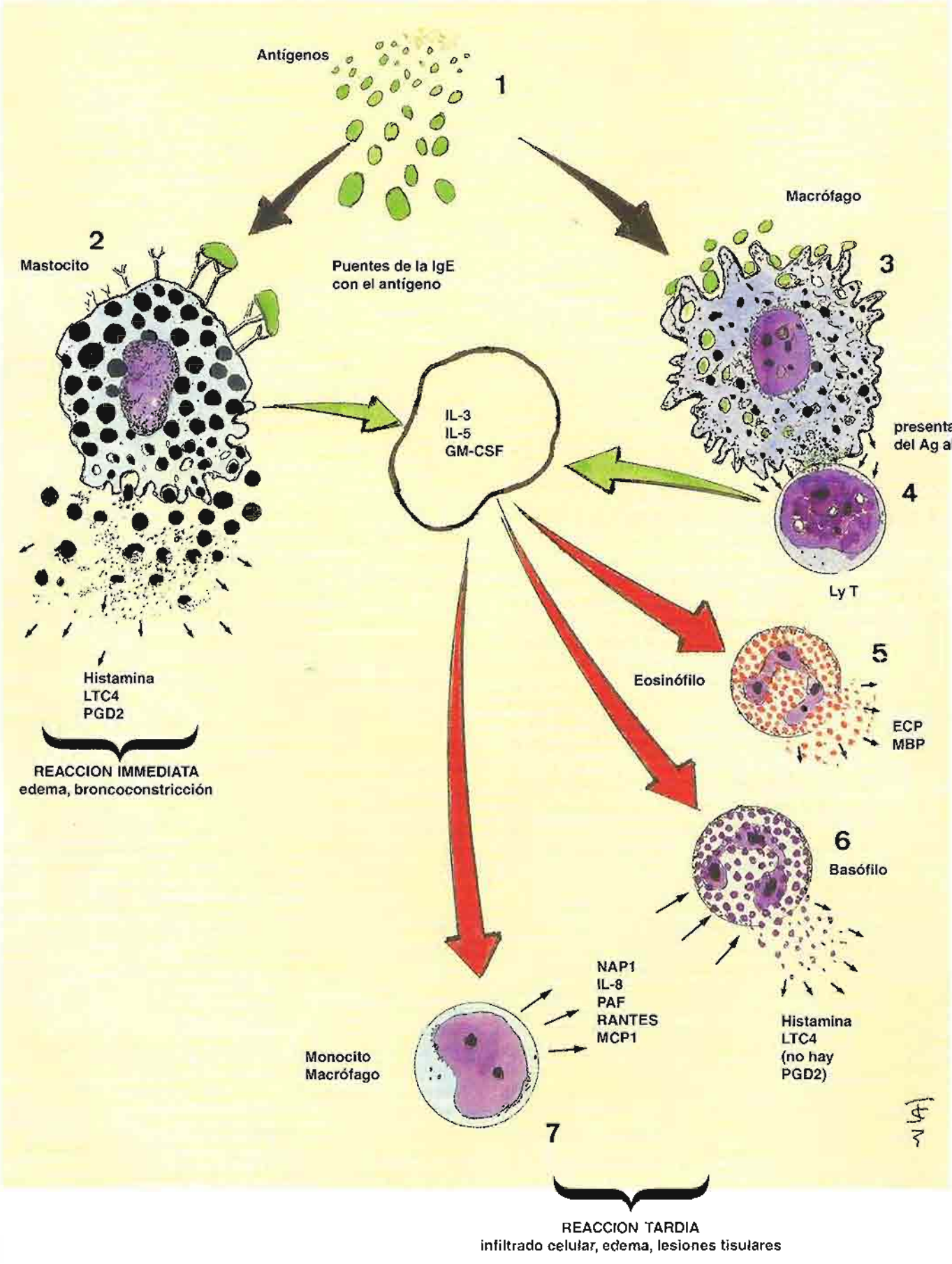



Figura 48

## 1.12.6. La inflamación alérgica: una realidad compleja

La descripción de los 4 tipos de reacciones inmunológicas según Gell y Coombs, se corresponde bien con los mecanismos iniciales desencadenantes de los diversos tipos de reacciones, pero no muestra la complejidad patofisiológica que les caracteriza.

Por ejemplo, en la reacciones de tipo I, llamadas anafilácticas,que son desenacadenadas por el puenteo de moléculas de IgE específica sobre la membrana de los mastocitos, puenteo efectuado por el alérgeno **(Fig. 48)**, la **reacción inmediata** provocada, caracterizada por la liberación de mediadores preformados (por ejemplo histamina) o neoformados (por ejemplo sulfoleucotrienos: LTC4, LTD4, LTE4), constituye sólo una parte de la reacción.

Esta fase inmediata, desencadenada por el alergeno en cuestión de minutos, va seguida en general por una **fase tardía** que aparece pasadas 6–8 horas, sin que sea preciso un nueva administración de alergeno **(Fig. 48)**. En el transcurso de la fase inmediata de una reacción dependiente de IgE, la célula implicada en primera instancia es en general el mastocito tisular. Este libera o produce rápidamente mediadores farmacológicos responsables del edema tisular, al aumentar la permeabilidad capilar, y de la constricción de la musculatura lisa. El mastocito activado produce así mismo mediadores quimiotácticos, que atraen hacia el lugar de la reacción células sanguineas, principalmente eosinófilos y basófilos. Pasadas unas horas, **el mastocito activado** produce diversas citoquinas, en particular IL3, IL-5 y GM-CSF, que tienen una actividad proinflamatoria. Un grupo de citoquinas muy similares es **igualmente producido por las celulas Th2 activadas** simultaneamente por el alergeno. En efecto, no puede haber IgE especificas para un alergeno sin que los linfocitos T específicos para dicho alergeno hayan proliferado de manera clonal durante el periodo de sensibilización. Esta producción de citoquinas llamadas "Th2 like" tiene dos efectos: por una parte aumenta la actividad de los eosinófilos y basófilos que infiltran el foco de la reacción primaria (fenómeno de **"priming"**), y por otra parte activa a los monocitos y macrófagos tisulares y estos a su vez producen diversos mediadores como IL-8, RANTES, MCP-1 o PAF, capaces de desencadenar la liberación de histamina y otros mediadores por los basófilos activados. Estos factores se engloban bajo el nombre de **factores "liberadores de histamina"**. A menudo, una activación concomitante del complemento y la producción de anafilotoxina C3a y C5a se une a otros factores desencadenantes de una segunda ola de mediadores inflamatorios.

La fase tardía, con la infiltración celular y la consigiente liberación de numerosos mediadores, como son los liberados por los eosinófilos (por ejemplo ECP: Eosinophil Cationic Protein, MBP: Major Basic Protein), juega un papel patológico a menudo más importante que la fase inmediata, sobre todo en el asma. Como se ve en la **Fig. 48** esta reacción inflamatoria no depende estríctamente de la presencia de IgE. Una activación no específica de los mastocitos (como por ejemplo en el caso de ciertos medicamentos o reacciones llamadas **"pseudoalérgicas"**) o una activación independiente de las células Th2, puede llevar igualmente a una infiltración celular esencialmente de eosinófilos y basófilos, así como a la misma liberación de mediadores, produciendo un cuadro clínico muy similar. Así pues hay un parentesco clínico y patofisiológico evidente entre ciertas manifestaciones tales como el asma alérgico clásico (llamado extrínseco, con presencia de IgE específicas contra alergenos inhalados), el asma intrínseco (aparentemente no ligado a la presencia de IgE) y las manifestaciones pseudoalérgicas (por ejemplo el asma desencadenado por la aspirina).

# DIFERENTES TIPOS DE INFLAMACION

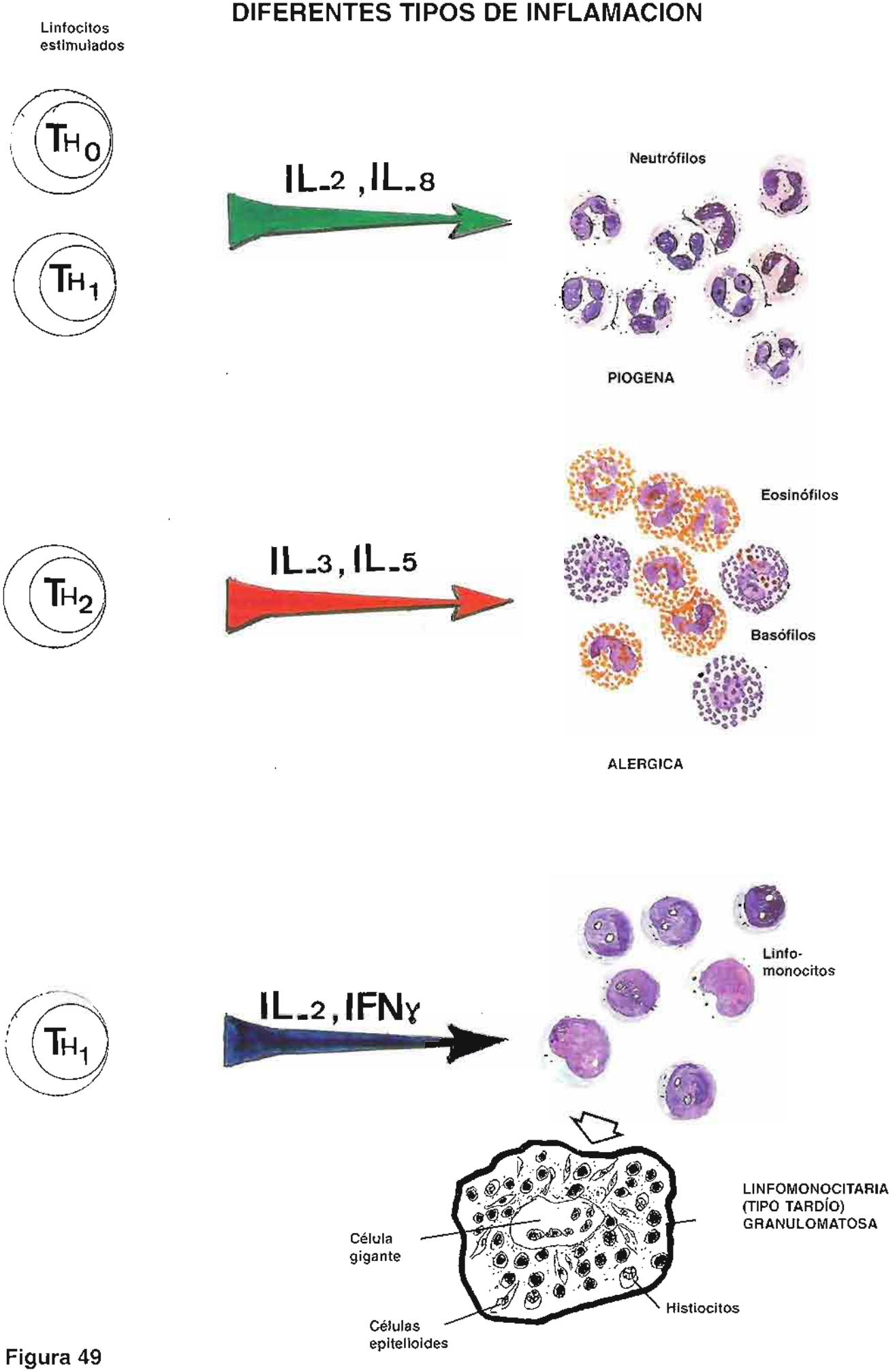


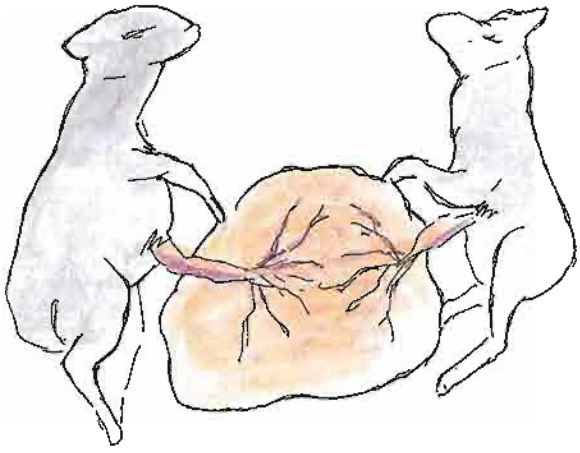

Figura 49

Parece cada vez más claro que el grupo de citoquinas producidas por los linfocitos T activados por el alergeno es directamente responsable del tipo de reacción inflamatoria que se produzca. Según los tipos de células que participen y los mediadores que se liberen se distinguen en la actualidad (**Fig. 49**):

a) la inflamación **piógena**,que implica en primer lugar a los neutrófilos y lleva a la formación de pus. En este tipo de inflamación, los linfocitos T que entran en juego parecen producir principalmente IL-2 e IL-8.
b) la inflamación **alérgica**, caracterizada por una infiltración de eosinófilos y basófilos, dependiente de los linfocitos Th2 que producen fundamentalmente IL-3 e IL-5.
c) una inflamación **linfomonocitaria**, dependiente de los linfocitos Th1 que producen IL-2 e interferón $\gamma$. En su fase crónica, esta inflamación lleva a una reacción granulomatosa con la consiguiente diferenciación de células mononucleares en histiocitos, células epitelioides, células gigantes y activación de los fibroblastos.

Esta diferenciación entre los diferentes tipos de inflamación y los tipos de citoquinas asociadas se ha esquematizado. La realidad es mucho más compleja. Sin embargo, esto nos permite comprender mejor, como una reacción inmune de defensa contra un mismo agresor externo, por ejemplo el bacilo de la lepra, puede presentar formas y evoluciones muy diferentes de la enfermedad. Si la respuesta corre principalmente a cargo de los linfocitos T del tipo Th 1, la defensa se manifiesta en forma de granulomas tisulares (**lepra tuberculosa**), mientras que si la repuesta es del tipo Th2, la enfermedad se produce de forma diseminada sin destrucciones tisulares localizadas (**lepra lepromatosa**). Así mismo, una respuesta del tipo Th1 en la infección por Leishmania donovani se traduce en un granuloma localizado y finalmente en una curación de la infección, mientras que una respuesta de tipo Th2 desemboca en una forma generalizada de la enfermedad (Kala-azar).

# TOLERANCIA INMUNOLOGICA



Los gemelos heterozigóticos que comparten la misma placenta se vuelven tolerantes el uno con el otro

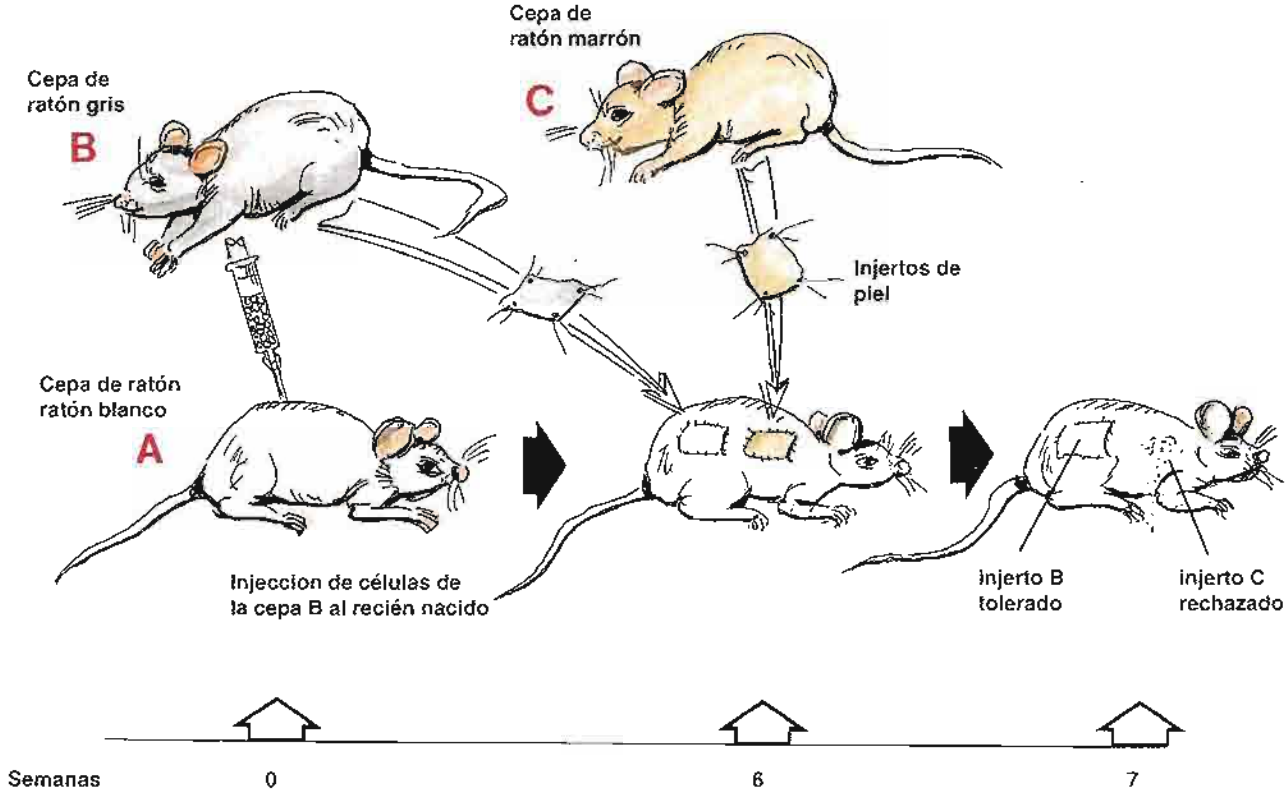



Figura 50

# 1.13. Tolerancia inmunológica

El sistema inmune nos defiende tanto contra las agesiones exteriores, debidas a bacterias o virus, como contra las interiores (por ejemplo células tumorales). Así pues,se precisa de un mecanismo que impida al sistema inmune atacar al organismo que lo porta, es decir que le permita reconocer lo "propio" y lo "no propio". El principio que permite al sistema inmune no atacar a su propio portador fue descrito a principios del siglo XX por Paul Ehrlich, padre de la inmunología, bajo el nombre de "horror autotoxicus", principio que más tarde se definió como **tolerancia inmunológica.** En su asusencia, el sistema inmune puede volverse contra él mismo, provocando una **enfermedad "autoinmiune"**.

Los antígenos "propios" del organismo, no son químicamente o estructuralemente diferentes a los otros antígenos. Así pues serán reconocidos por otro organismo como "no propios" y rechazados .Se deduce que **la tolerancia inmunológica de "lo propio" es un fenómeno adquirido en el curso del desarrollo embrionario** y de la maduración del organismo. Este fenómeno es tan específico como la respuesta inmune en sí: sólo es valido para los antígenos que lo inducen.

Una primera observación de este fenómeno natural ha demostrado que terneros dicigóticos, con una constitución genética diferente, que comparten durante su desarrollo embrionario la misma placenta se vuelven tolerantes el uno con el otro, tolerancia que se mantiene en la edad adulta **(Fig. 50, A)**. Medawar **(Figura 50, B)** demuestra como la tolerancia puede ser inducida experimentalmente por el contacto de lo "no propio" con un sistema inmune inmaduro. Inoculando a ratones de cepas A recien nacidos, es decir cuando su sistema inmune es todavía inmaduro, células de médula osea de ratones de cepas B, se induce una tolerancia por parte de los ratones receptores para todas las células de las cepas B. Posteriormente, en la edad adulta, se les practican injertos de piel provinientes de la cepa B o de otra cepa C. Sólo los injertos provinientes de la cepa C, para los cuales no ha sido inducida una tolerancia inmunológica, son rechazados.

El análisis experimental de los fenómenos de tolerancia inmunológica ha demostrado que varios mecanismos, no excluyentes el uno del otro, pueden inducir la tolerancia **(Fig. 51–54)**.

## MECANISMOS DE TOLERANCIA INMUNOLOGICA
## I. ELIMINACION CLONAL EN EL TIMO

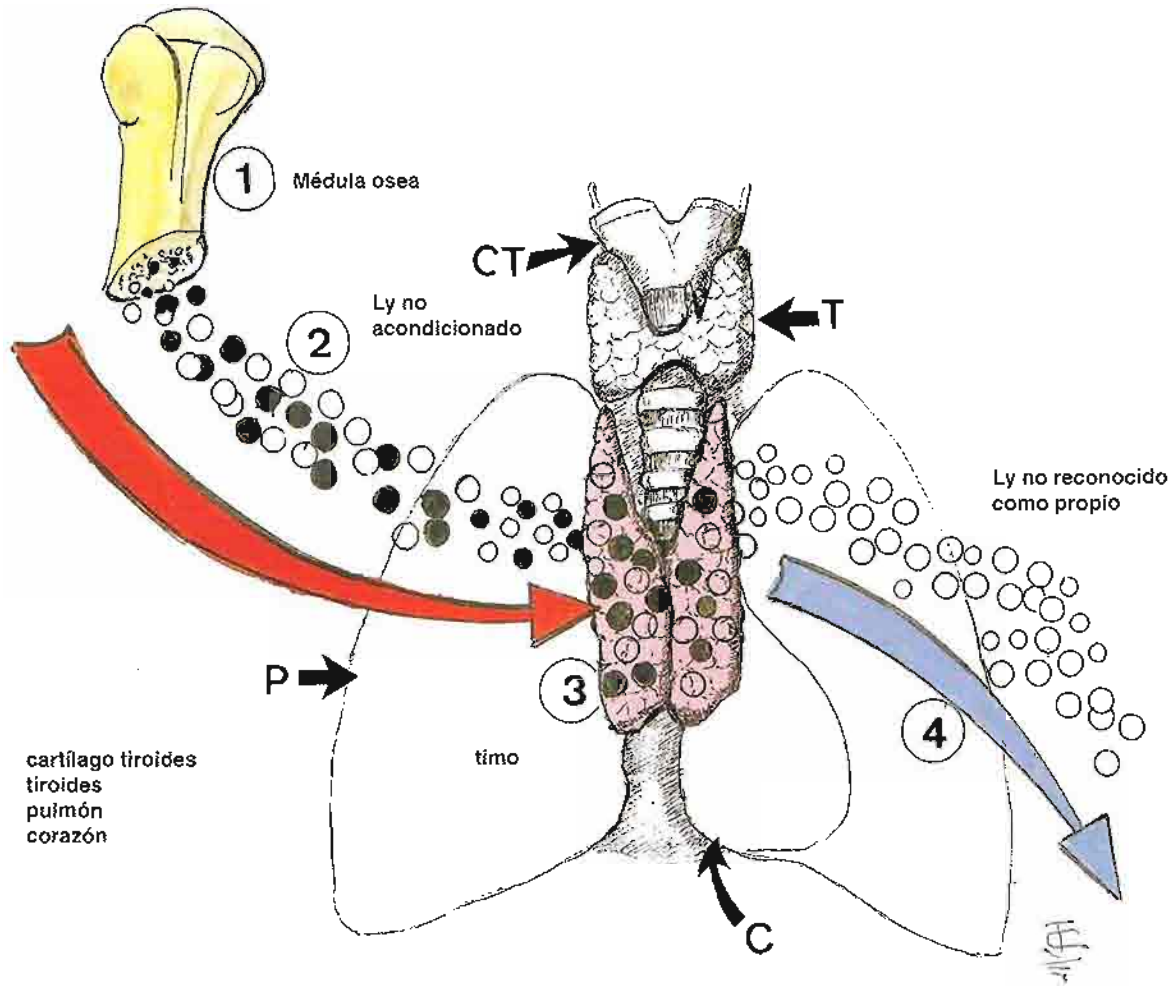



**Figura 51**

**Figura 51:** 1. Los linfocitos T provinientes de la médula osea ❶ se acondicionan en el timo ❷. La mayor parte de ellos, particularmente los que son capaces de reconocer los antígenos de lo "propio", que están presentes en el timo, mueren allí mismo rápidamente ❸. Es el fenómeno de **eliminación clonal**. Por el contario las clonas aloreactivas, es decir capaces de reconocer lo "no propio", sobreviven y colonizan los diferentes órganos linfoides ❹.

**Figura 52:** 2. El mecanismo de tolerancia debe mantenerse durante toda la vida y puede ser adquirido asi mismo después del periodo de desarrollo embrionario. Es por lo que un **linfocito inmaduro** que entra en contacto con el antígeno específico que él reconoce puede ser parado en su desarrollo y en su proliferación: es el fenómeno de **aborto clonal**. Si por el contrario, el antígeno entra en contacto con un linfocito ya maduro, se produce una respuesta inmune normal con la consigiente proliferación específica clonal.

# MECANISMOS DE TOLERANCIA INMUNOLOGICA
## II. ABORTO CLONAL

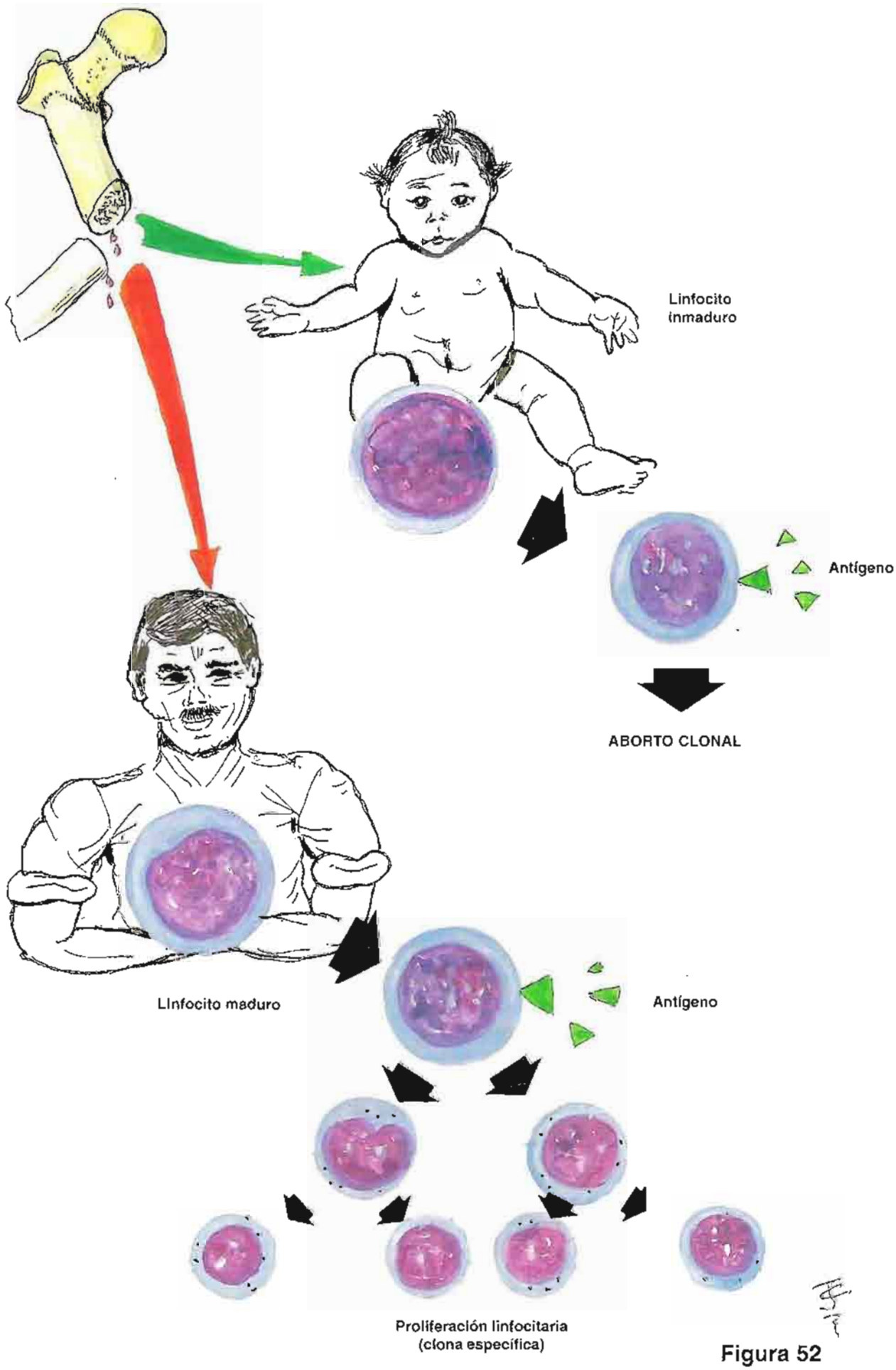



Figura 52

## MECANISMOS DE TOLERANCIA INMUNOLOGICA
## III. ELIMINACION CLONAL

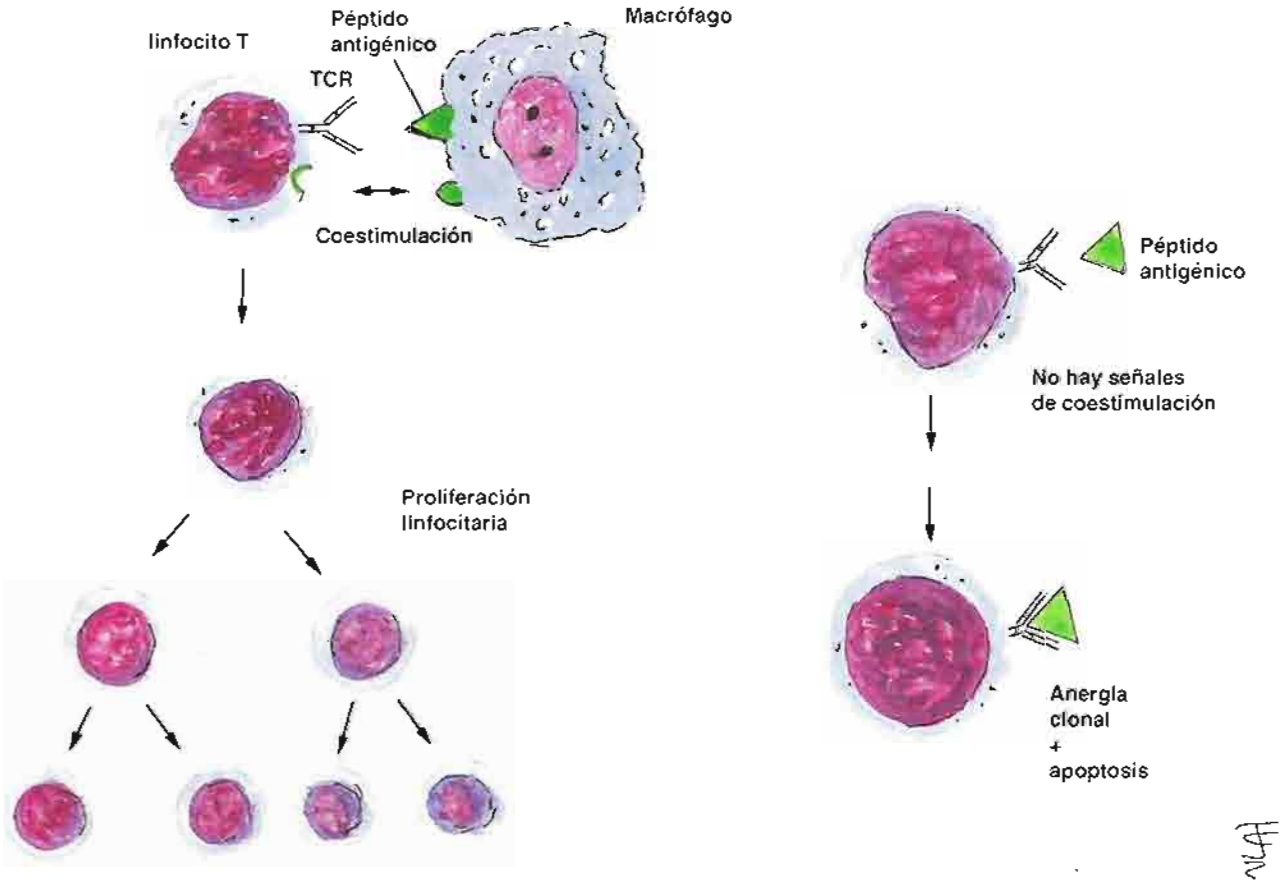



Figura 53

## MECANISMOS DE TOLERANCIA INMUNOLOGICA
## IV. CELULAS T SUPRESORAS

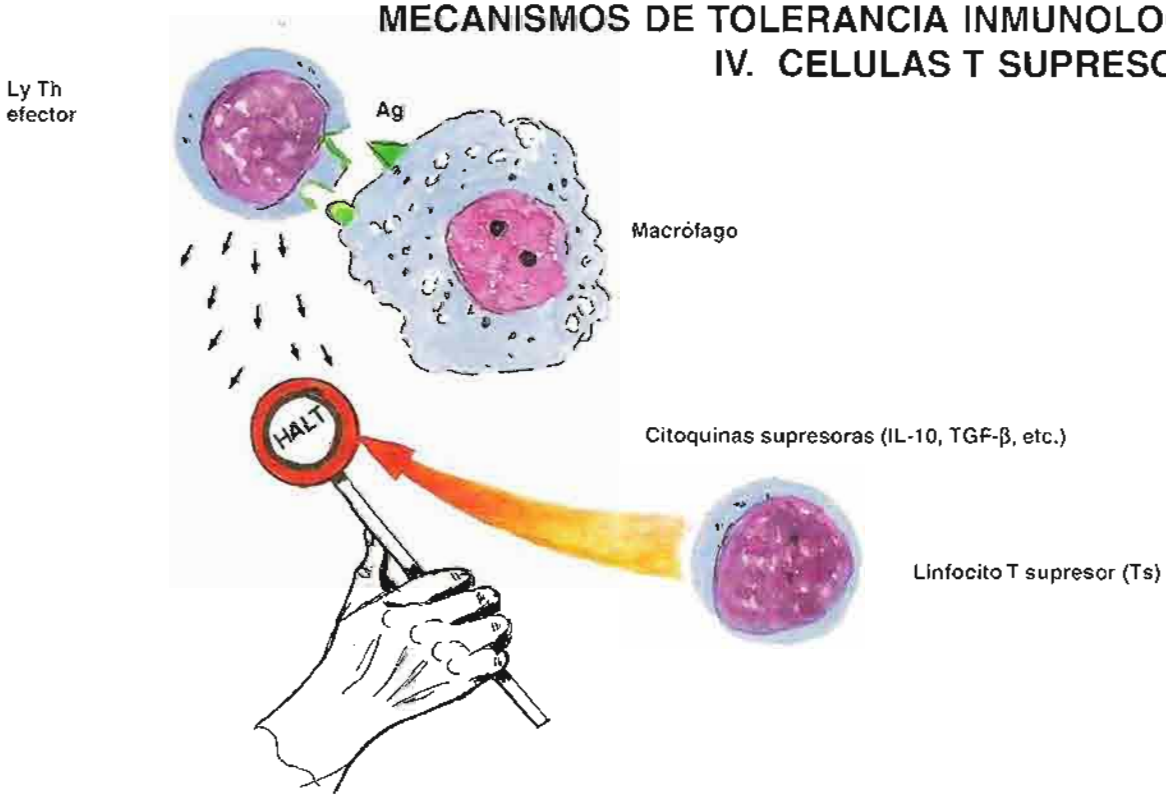



Figura 54

**Figura 53:** 3. Los linfocitos T necesitan para responder a un estímulo y para proliferar, que los péptidos provenientes del antígeno, que son reconocidos por los receptores T (TCR), le sean presentados por una célula accesoria, que en general es un macrófago. Así mismo, **es fundamental que la célula accesoria les suministre señales de "coestimulación"**. Si por el contario el péptido antigénico es presentado y reconocido directamente, sin señales de coestimulación, el linfocito T es incapaz de reaccionar, se vuelve **anérgico**.

Este fenómeno puede observarse tanto en la edad adulta como en un organismo que ya haya desarrollado una respuesta inmune contra el antígeno en cuestión. La identificación de epítopos T, es decir de péptidos reconocidos por los linfocitos T, permite en principio su admistración e induce una tolerancia o desensibilización específica. Este proceso está en la actualidad en fase de ensayos clínicos, tanto en alergia como en el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

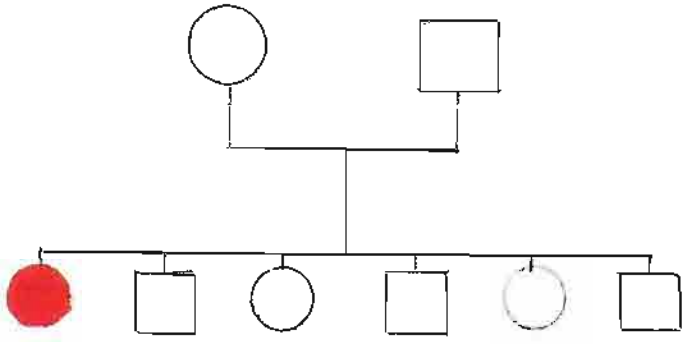
**Figura 54:** 4. Algunos linfocitos activados por el antígeno producen citoquinas que inhiben la proliferación linfocitaria (por ejemplo IL-10, TGF-B).Estos linfocitos se llaman **supresores**. Explican, en gran medida, como la tolerancia inmunológica puede en algunos casos transmitirse por inoculación de células de un animal que se ha convertido en tolerante a otro no tolerante.

Los linfocitos T tienen mayor capacidad para volverse tolerantes que los linfocitos B. En la mayor parte de los fenómenos de tolerancia natural adquirida están implicados los linfocitos T. Por el contario los linfocitos B, capaces en principio de producir autoanticuerpos contra los antígenos de lo "propio", están frecuentemente presentes aún en ausencia de una enfermedad autoinmune. Estos son a menudo la consecuencia de un escape a la tolerancia de los linfocitos T contra los antígenos de lo "propio".

La mejor comprensión de los fenómenos de tolerancia inmunológica ha permitido nuevos avances terapéuticos para el tratamiento de las enfermedades autoinmunes, de las alergias, así como en la prevención de las reacciones de rechazo en los transplantes.

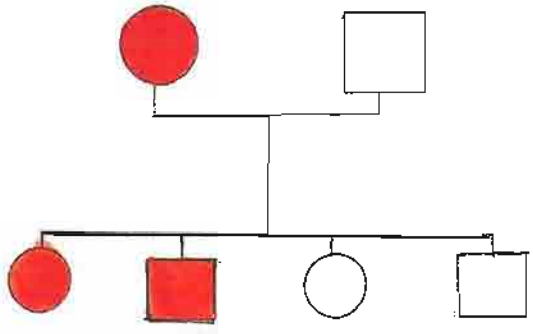
## HERENCIA DE LA ATOPIA

(manifestaciones clínicas: fiebre del heno, asma, dermatitis atópica)



Ningún progenitor atópico

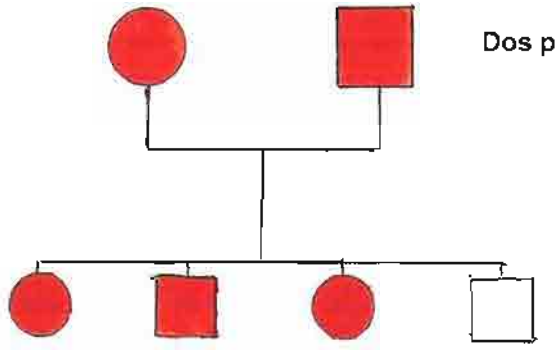
**15 %** de hijos atópicos



Un progenitor atópico

**40 - 50 %**

de hijos atópicos



Dos progenitores atópicos

**75 %**

de hijos atópicos

Figura 55

# Enfermedades alérgicas comunes

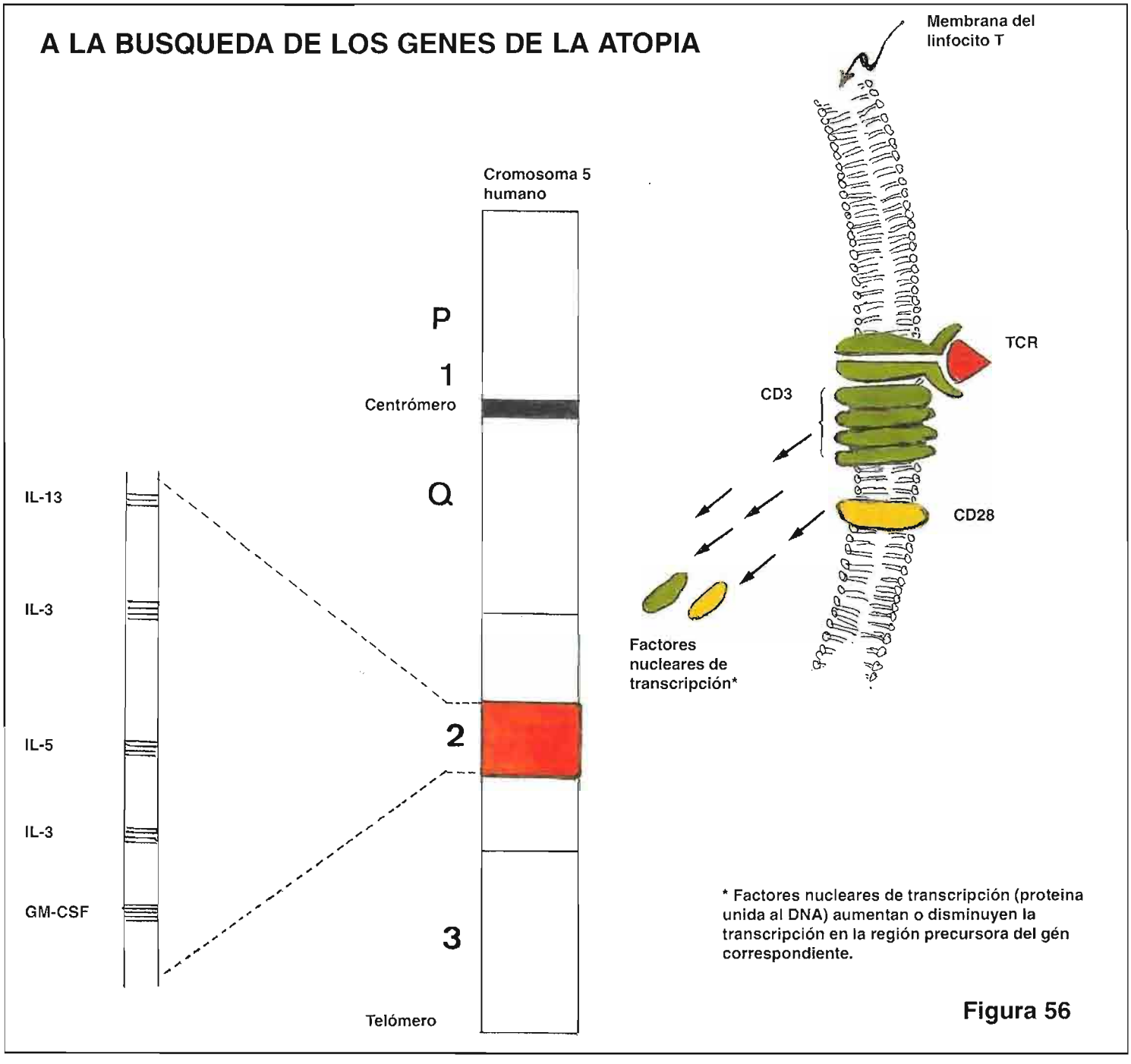



Figura 56

## 2.1. La atopia: una predisposición genética

La atopia (del griego ατοπος: "no común") es un término que fue introducido por Cooke en 1923 para designar la predisposición particular de algunos individuos para desarrollar algunas enfermedades alérgicas típicas, tales como la fiebre del heno, el asma o el eczema atópico. Se ha observado que estas enfermedades aparecen más frecuentemente en unas familias que en otras lo que apunta hacia una influencia génetica.

Sin embargo, el estudio de árboles genealógicos **(Fig. 55)**, desde el punto de vista de la alergia o estudios

prácticos realizados en gemelos monocigóticos no proporcionan una imagen homogenea compatible con un sólo gen dominante o recesivo. La atopia aparece más frecuentemente en hijos de padre y madre atópicos, pero puede también saltar una generación, si la expresión clínica de la enfermedad se toma como criterio. Esto es, lo que parece trasmitirse genéticamente no es una enfermedad alérgica clínica aparente, como el asma o la fiebre del heno, sino más bien la capacidad de desarrollar esta enfermedad al ser expuesto a ciertos alergenos al comienzo de la vida. La definición de atopia ha ido variando en el curso del tiempo según los autores, lo que ha hecho más dificil los analisis genéticos y su interpretación. En la actualidad **la atopia se asocia cada vez más a la capacidad de producir cantidades anormales de IgE específicas trás el contacto con pequeñas cantidades de alergeno, bien sea por inhalación o por ingestión**.

La búsqueda de los genes atópicos es objeto de intensas investigaciones. Un grupo inglés, basandose no en los criterios clínicos clásicos que definen a los pacientes atópicos sino en la presencia de IgE específica contra los alergenos comunes, ha descrito recientemente un sistema de genes autosómicos dominantes localizados en la región q 13 del cromosoma humano 11. Estos resultados son sin embargo controvertidos. La atención de los investigadores se centra cada vez más sobre el cromosoma 5,que porta varios genes responsables para la expresión de citoquinas IL-4, IL-3,IL-5 IL-13, y GM-CSF **(Fig. 56)**. Así pues, estas citoquinas son los factores "proalérgicos" típicos que intervienen tanto aumentando la producción de IgE como favoreciendo e intensificando la producción de mediadores de la inflamación alérgica. Estas citoquinas, producidas en primer lugar por los linfocitos Th2, son producidas en grandes cantidades en los pacientes atópicos. Así, se puede admitir que la regulación genética aparente que se produce en las enfermedades alérgicas sea debida a la regulación de la expresión de citoquinas de la "familia" IL-4. A escala molecular, esta regulación se realiza por una serie de factores nucleares que influyen de manera positiva o negativa en la transcripción del ADN **(Fig. 56)**.

Estudios genéticos profundos realizados en una población humana bien definida caracterizada por una tasa elevada de matrimonios consanguineos (Amish de Pensilvania) parece confirmar la asociación de genes situados en la región IL-4 del cromosoma 5 con la herencia atópica.

La identificación precisa de genes asociados a la atopia tendrá con seguridad consecuencias prácticas importantes. Premitirá, por un lado la detección precoz de "niños de riesgo" y por otro la instauración de medidas preventivas concretas. Por otra parte, es de esperar que el conocimiento de los mecanismos que regulan la expresión de los genes asociados a la atopia permita el descubrimiento de agentes terapéuticos específicos que prevengan la expresión de las diferentes citoquinas, como por ejemplo sustancias inmunosupresoras y antiinflamatorias tales como la ciclosporina o FK506.

## 2.2. Rinitis estacionales o periódicas: la fiebre del heno

La fiebre del heno es un término consagrado pero inapropiado, ya que no sólo el heno, sino también los pólenes son responsables de esta afección. El termino inglés "Hay fever" es todavía más incorrecto ya que no hay ni fiebre, ni heno ...

El termino **polinosis** es más exacto. Esta precisión es necesaria, ya que el profano puede confundir la fiebre del heno con la rinitis ocasionada por el polvo que se encuentra en los graneros o en los henales.

La fiebre del heno clásica esta provocada por los **pólenes de gramineas**. Las gramineas que más frecuentemente se encuentran son el dactilo (Dactylis glomerata), el bromo (Bromus mollis), el heno blanco (Holcus lanatus), la festuca ovina, la cañuela (Poa pratensis), el lolium perenne (el ray – grass inglés), la avena loca (Avena barbata), la grama de olor (Anthoxanthum odoratum) la cola de zorra (Alopecurus pratense) y el fleo o cola de rata (Phleum pratense).

**En Europa occidental**, la polinización de las gramineas va de mayo hasta finales de junio. Esquematicamente: antes de este periodo, encontramos las polinosis debidas a los **pólenes de árboles** (de enero a junio) sobre todo por el abedul, después viene el periodo de las gramineas y de las **compuestas** (de agosto a septiembre) que son las responsables de las polinosis. Su representante es la artemisa. El aster, el crisantemo, y la ambrosia (el famoso ragweed, el principal causante de las polinosis en Estados Unidos), son también compuestas. La polinización es variable de una región a otra. En las polinosis son numerosas las plantas que juegan un papel más o menos importantes. Citaremos algunos ejemplos: el sauce, el aliso y el avellano. Añadiremos también la parietaria, la mimosa y el olivo en el sur, la ortiga, el plantago, el trebol y los cereales. En los paises tropicales el arroz, el té, el bambú y la caña de azucar provocan igualmente polinosis.

La fiebre del heno se manifiesta por un picor de ojos, de nariz y del paladar blando, una conjuntivitis, con frecuencia muy intensa, rinitis con estornudos en salvas, obstrucción, rinorrea acuosa y a veces tos. Las polinosis se complican a veces con anosmia, con una sinusitis inflamatoria e incluso con asma, que es más frecuente cuanto más joven es el individuo. Trás esta fase precoz, aparece en ciertos casos una fase tardía – entre 3 y 10 horas trás el contacto – debida a la afluencia de eosinófilos. La rinoscopia, realizada en la fase aguda, nos muestra una mucosa pálida o lila, edematosa y cubierta de secreciones claras.

El clima cálido y seco favorece la dispersión de los pólenes en la atmósfera y por consigiente la fiebre del heno. La lluvia los arrastra hacia el suelo. Los pólenes alergizantes son muy pequeños e invisibles a simple vista. Se llaman **anemófilos,** es decir transportados por el viento, al contrario que los pólenes **entomófilos**, más voluminosos, que son transportados por los insectos.

Hay que señalar que en la fiebre del heno se produce un aumento tanto de los eosinófilos en sangre como en las secreciones nasales así como en general una elevación de los niveles de IgE.

La actividad más nociva para el individuo alérgico a las

gramineas es segar el césped durante el periodo de polinización. La fiebre del heno es la más característica de las enfermedades alérgicas de tipo I.

La fiebre del heno responde bien a la hiposensibilización específica correctamente aplicada, complementada si fuese necesario por la aplicación local, ocular o nasal, de cromoglicato disódico o de beclometasona y de la administración de antihistamínicos por vía oral. Los corticoides sistémicos no están en principio indicados en el tratamiento de la fiebre del heno, salvo en circunstancias excepcionales (fiebre del heno muy severa, boda, exámenes universitarios, etc.).

# 2.3. Rinitis perennes o aperiódicas

La rinitis alérgica perenne se aproxima por sus síntomas a la fibre del heno, pero sus manifestaciones no tienen un ritmo estacional y son con frecuencia menos agudas. Los pacientes sufren frecuentes episodios de obstrucción nasal, rinorrea acuosa y estornudos en salvas. Cefaleas e hiperplasia o infección de la mucosa de los senos, pueden complicar el cuadro.

Cuando la rinitis se acompaña de asma, es facilmente descuidada por el paciente. En caso de infección crónica el cuadro se vuelve menos típico. La obstrucción nasal predomina,los estornudos son raros, la rinorrea es menos abundante y con frecuencia mucopurulenta en lugar de acuosa y la tos no es rara, siendo esta un signo de una participación traqueobronquial.

La rinoscopia nos muestra imagenes variables según las lesiones histológicas. La mucosa puede ser pálida y edematosa o bien hipertrófica y congestiva con secreciones mucopurulentas, o atrófica.

La rinitis alérgica perenne está causada con frecuencia por una alergia a los ácaros del polvo y predomina en otoño. También pueden ser responsables otros alergenos como las faneras de animales (gatos, perros), la crín de los caballos y los bóvidos, la harina en el caso de los panaderos, los hongos atmosféricos, medicamentos (sobre todo penicilina) diversas sustancias químicas (alergias profesionales) y quizás algunos alimentos.

Si bien la alergia juega el papel etiológico esencial en la rinitis perennes, otros factores pueden jugar también un papel, como la infección o el bloqueo mecánico de los forámenes de los senos.

## 2.3.1. Poliposis nasal

La poliposis nasal se puede ver como una complicación de una rinitis perenne, pero a menudo constituye la primera manifestación de una rinitis. Se trata en general de un daño nasosinusal. Los pólipos teniendo su origen en los senos maxilares o etmoidales se desarrollan en las fosas nasales en el extremo de un fino pedúnculo. La patogenia de estos pólipos no esta todavía esclarecida.

Existe una asociación entre pólipos, asma e intolerancia a la aspirina: **triada de Widal.**

La importancia del factor alérgico en la poliposis está muy discutida.

Los **pólipos**, que son pálidos o rosados, insensibles a la palpación y de consistencia blanda (aspecto de "vejiga de pez") no deben confundirse con las **vegetaciones**, que son excrecencias carnosas de naturaleza linfoide. La opinión del otorrino es de gran valor. A veces es dificil distingir una rinitis alérgica persistente de una rinitis crónica no alérgica. En el niño, hay que pensar sobre todo en la alergia. El tratamiento de las rinitis alérgicas perennes es el mismo que el de la fiebre del heno: hiposesibilización (con resultados no tan buenos como en la polinosis), antihistamínicos, corticoides locales (beclometasona) y cromoglicato. El uso de antibióticos se justifica si existen episodios infecciosos.

## 2.3.2. Extirpación de las vegetaciones y de las amígdalas

La pregunta de si hay que extripar o no las vegetaciones y las amígdalas es muy frecuente. Las vegetaciones voluminosas y molestas, responsables de una obstrucción nasal permanente deben ser, si es posible, eliminadas (adenoidectomía). La amigdalectomía, por el contrario, se reserva para los casos de infecciones crónicas y/o complicadas (otitis) después de haber fracasado un tratamiento médico prolongado y bien llevado. Existen, en efecto, casos de desarrollo de asma trás una amigdalectomía inadecuada.

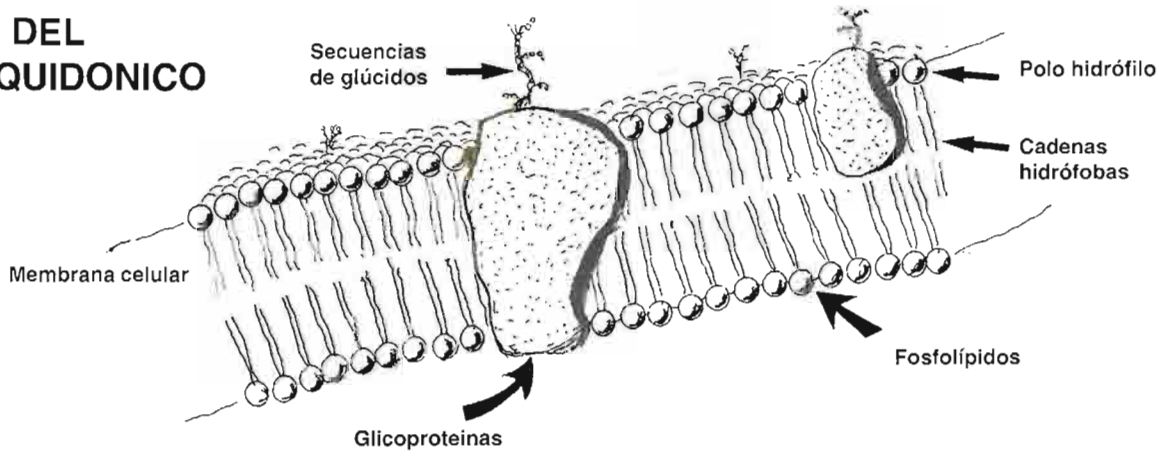
# 2.4. Asma

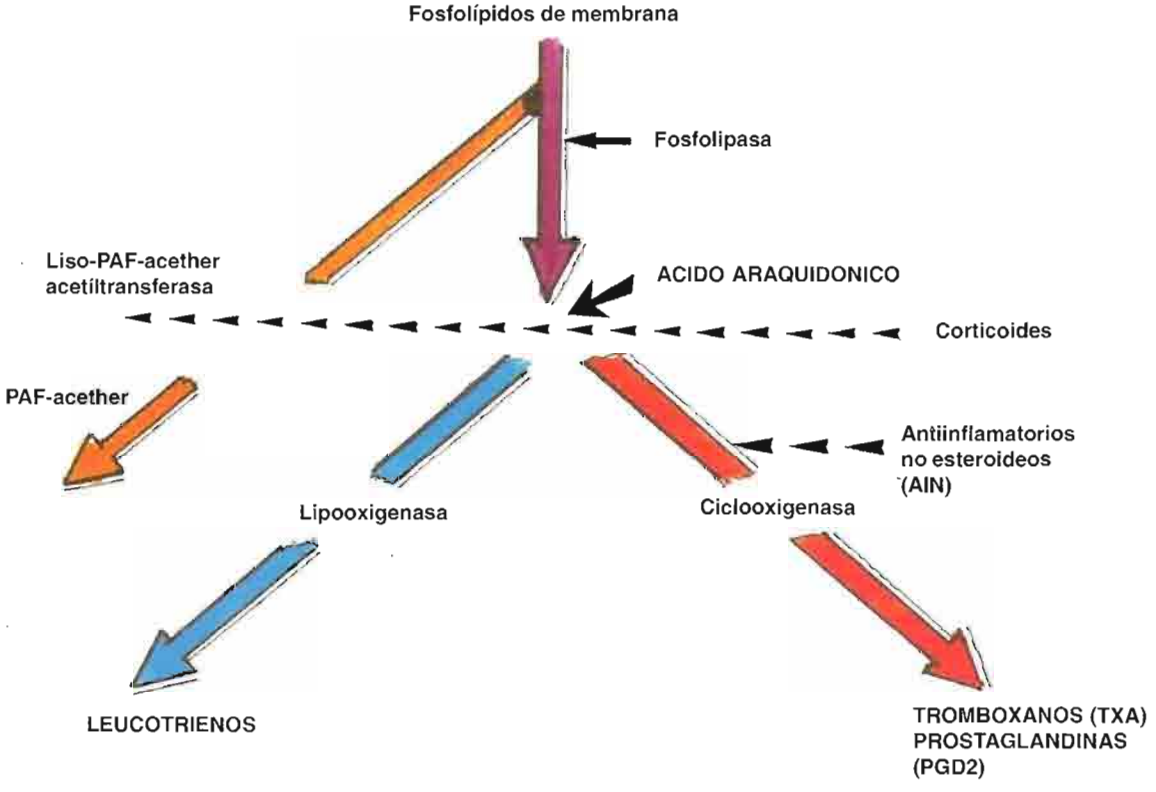
En la actualidad, no hay una definición del asma que sea unanimamente aceptada.

Sin embargo, un consenso internacional ha definido recientemente el asma como una **enfermedad respiratoria caracterizada por:**

**a) una obstrucción bronquial no siempre totalmente reversible;**
**b) una inflamación de las vías aereas;**
**c) una hiperreactividad bronquial a diferentes estimulos.**

# DERIVADOS DEL ACIDO ARAQUIDONICO



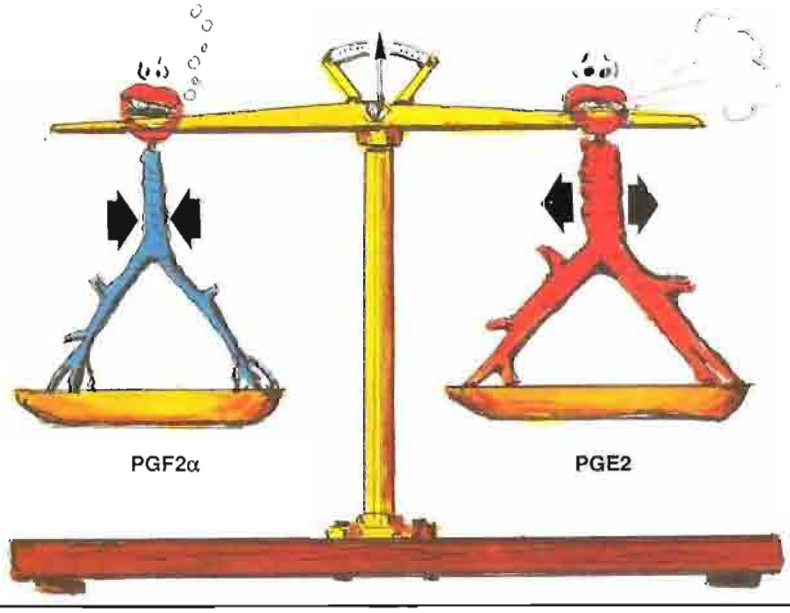




Figura 57

Esquematicamente, se puede decir que estos tres elementos intervienen de forma variable y más o menos reversible: un **espasmo** de la musculatura bronquial, un **edema** de la mucosa y una **hipersecreción**.

## 2.4.1. Asma e hiperreactividad bronquial

Salvo varias excepciones, el asma afecta sólo a pacientes que tengan una hiperreactividad bronquial no específica o no alérgica, es decir una sensibilidad exagerada de la pared bronquial.

Esta hiperreactividad se traduce en una permeabilidad anormal de las mucosas a los Ag, un desequilibrio simpático-parasimpático (el simpático tiene una acción broncodilatadora y el parasimpático bronconstrictora) una hipertrofia e hiperexcitabilidad de los músculos bronquiales.

Si la hiperreactividad bronquial se acompaña de una sensibilización a un alergeno, con formación de Ac específicos (IgE), la exposición a este alergeno puede desencadenar una crisis asmática. Este es el **asma extrínseco o alérgico o atópico** (la atópia se puede definir como una predisposición para desarrollar manifestaciones de hipersensibilidad inmediata como el asma, la fiebre del heno, la urticaria o el eczema después del contacto con los alergenos).

En otros casos de asma ningún síntoma o prueba de alergia, tal como IgE específica, puede ponerse en evidencia. Las crisis se desencadenan después de la exposición a factores irritantes no específicos (humo de tabaco, aire frio, ejercicio físico, etc.), factores psicológicos (decepción, enojo, angustia, etc.) o bien sin causa aparente. Se habla del **asma intrínseco.** No obstante, con frecuencia hay niveles de IgE totales elevados, lo que podría significar que el asma llamado "intrínseco" fuese un asma extrínseco en el que el alergeno es desconocido. Otra posibilidad es que el asma intrínseco sea desencadenado por la interacción de las células T con un antígeno (por ejemplo bacterias u hongos), provocando una eosinofilia y una liberación de mediadores secundarios similares a los observados en la fase tardía de las reacciones inmediatas mediadas por la IgE.

Sea cual sea, el estímulo no específico y el estimulo específico mantienen la hipereactividad bronquial.

Algunos sujetos son alérgicos pero no tienen una hiperreactividad bronquial. La agresión del alergeno no provoca en ellos asma sino otras manifestaciones alérgicas como rinitis, conjuntivitis o urticaria.

El tono bronquial tiene un rítmo circadiano con un máximo de fragilidad al fín de la noche, hora esta, en la que muchos asmáticos tienen problemas. Esta noción es importante para la terapia, ya que hay que preveer una medicación de duración suficiente para cubrir el periodo más inestable.

El sistema nervioso autónomo juega también un papel importante en la regulación del diámetro bronquial. El mecanismo es mal conocido.

Dos mecanismos no alérgicos pueden desencadenar asma. Hay que pensar en:

1) intolerancia a ciertos medicamentos: **aspirina** sobre todo y **beta-bloqueantes;**
2) **reflujo gastroesofágico**: bastante frecuente, se pone de manifiesto por pirosis sobre todo en posición de decúbito o inclinado hacia adelante. Investigaciones a este respecto son necesarias.

Las terminaciones sensitivas de los nervios se encuentran entre las células bronquiales, en la nariz, en la laringe y en la faringe. El estímulo es enviado hacia el sistema nervioso central y de ahí sale hacia el órgano diana periférico. La destrucción del epitelio bronquial que ocurre en el asma crónico favorece la estimulación de nervios subyacentes.

Las células de los músculos lisos contienen receptores beta-adrenérgicos que al ser estimulados por catecolaminas provocan una relajación bronquial, pero también poseen receptores alfa cuya estimulación produce una contracción bronquial.

Algunos medicamentos vagolíticos (por ejemplo ipratropium) tienen una clara eficacia en ciertas formas de asma.

## 2.4.2. Cascada de mediadores e inflamación

En una reacción mediada por la IgE, se liberan una serie de mediadores, no sólo por los mastocitos y basófilos, sino también por otra células. Podemos clasificar los mediadores según su origen: **mediadores de membrana** de origen lipídico (PAF, leucotrienos, prostaglandinas, tromboxano A2) y **mediadores granulares** como las proteinas catiónicas del eosinófilo y sobre todo la histamina.

También podemos agrupar los mediadores según su función principal: **quimiotáctica** (ECF,NCF, LTB4), **citolítica** (MBP, EPO, EDN/EPX del eosinófilo) y **vasoactiva** (prostaglandinas, leucotrienos).

Sin embargo, ninguna clasificación nos da ninguna idea de la complejidad de las interacciones de todas estas sustancias. Un mismo mediador puede ser secretado por diferentes células, actuar sobre diversas células e interaccionar con otros mediadores.

El texto que sigue hace alusión simplemente a las principales piezas de la estrategia inmunológica sin pretender imponer un orden cronológico o jerárgico.

### 2.4.2.1. Mediadores preformados

La histamina está sobre todo almacenada en los gránulos de los basófilos y mastocitos. Al fijarse a los receptores H1 induce una broncoconstricción, una vasoconstricción pulmonar, un aumento de la permeabilidad capilar, un aumento de la producción de moco nasal y un efecto quimiotáctico para los neutrófilos.

Se han descrito los factores quimiotácticos para los eosinófilos **(ECF)** y para los neutrófilos **(NCF)**, este último,de origen mastocitario, induce entre otras una neutropenia.

Los gránulos de los eosinófilos contienen sobre todo la **MBP** (Major Basic Protein) que constituye el cristaloide central de los gránulos, la **ECP** (Eosinphil Cationic Protein), el **EDN/EPX** (Eosinophil derived Neurotoxin identica a la Eosinophil Protein-X) y la **EPO** (Eosinophil peroxidase). Todas estas sustancias son poderosamente citotóxicas.

### 2.4.2.2. Mediadores neoformados:

Las **prostanglandinas (PG)** y el **tromboxano (Fig. 57)** son derivados del ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa. Esta puede ser bloqueada por la aspirina, los AINS y los corticoides.

La **PGD2** tiene propiedades inflamatorias locales diver-

**ASMA**

los esquemas a enseñar al paciente

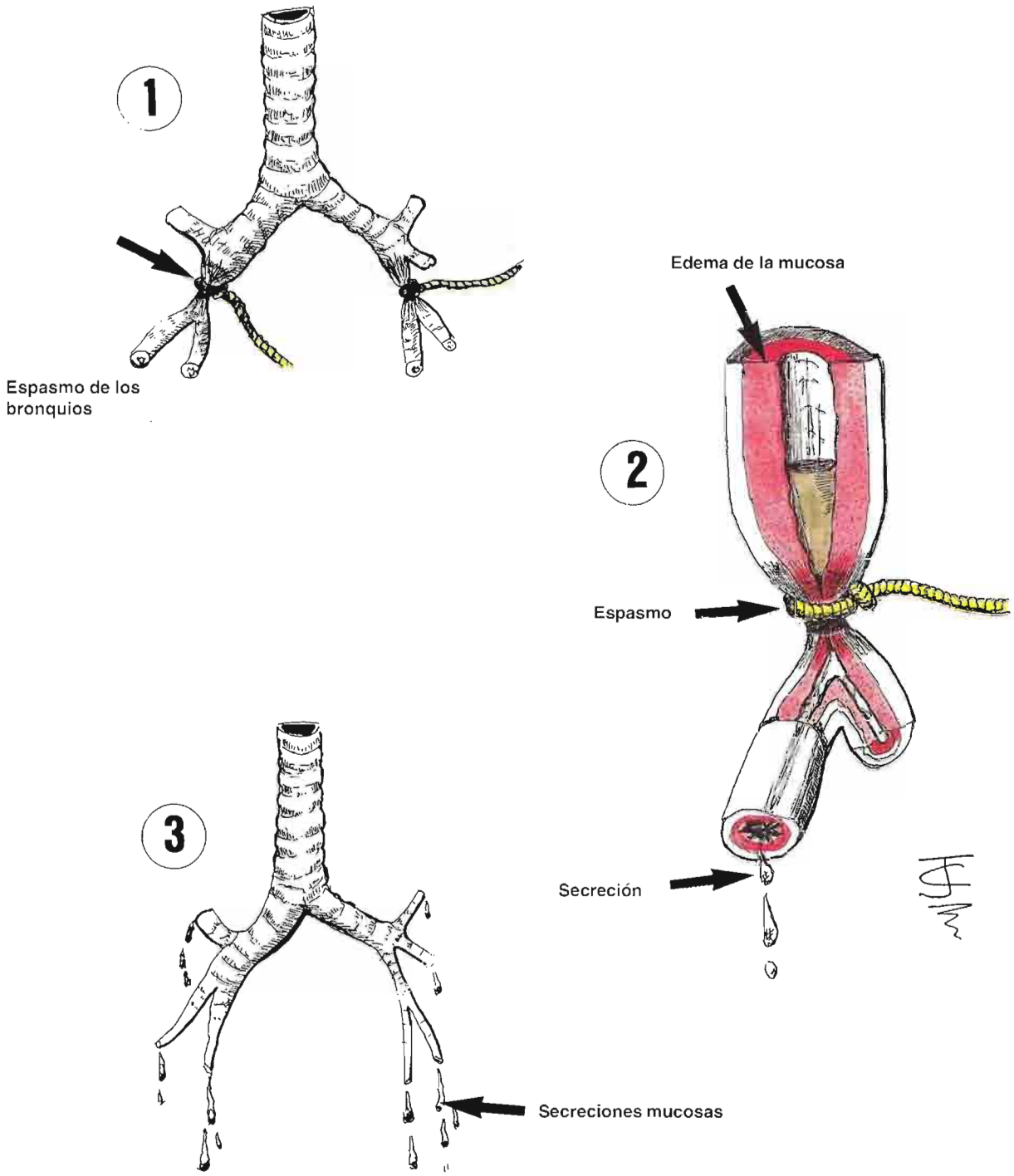



Figura 58

sas, la **PGE2** es **broncodilatadora y vasodilatadora**, la **PGF2** es **bronconstrictora** (más potente que la histamina).

En el asma, parece que existe un desequilibrio entre la PGE2 y la PGF2. La PGD2 es sintetizada masivamente por los mastocitos y es un potente trombolítico. El **TX A2** es un poderoso agente vasoconstrictor y agregante plaquetario. La **prostaciclina (PGI 2)** es igualmente sintetizada por esta vía, sobre todo en las células endoteliales. Es un poderoso vasodilatador y antiagregante plaquetario por estimulación del sistema de la adenílciclasa – AMPc.

Los **leucotrienos (LT)** se sintetizan a partir del ácido araquidónico por la vía de la lipooxigenasa, que puede ser bloqueada por los corticoides. El LTA4, precursor común, se transforma según las células en **LTB4** y/o **LTC4** y sus metabolitos, **LTD4, LTE4** (estos tres últimos forman la SRS-A o "slow-reacting substance of anaphylaxis").

Los leucotrienos son **bronconstrictores**. El LTC4 por ejemplo, es de 100 a 1000 veces más potente que la histamina. Por otra parte, el LTB4 es un poderoso agente quimiotáctico para los neutrófilos y podría regular la actividad de las células NK. Los LTC4 y LTD4 reducen el aclaramiento mucociliar y aumentan la producción de moco.

**El PAF** (o PAF-acether) es producido por la acción de la fofolipasa A 2 sobre los fosfolípidos de membrana. Es uno de los agentes agregantes plaquetarios conocidos más potentes, pero también es uno de los agentes quimiotácticos para los eosinófilos más poderosos. Su acción bronconstrictora se ejerce por medio de los mediadores celulares y plaquetarios cuya liberación estimula.

Las PG y los LT intervienen también en procesos inflamatorios generales. Por otra parte, las **citoquinas** producidas por los linfocitios T y por los monocitos atraidos al foco de la reacción inflamatoria o producidas por los mastocitos estimulados **(Fig. 48)** juegan un papel importante. Algunas de estas citoquinas (por ejemplo IL-3,IL-5, GM-CSF) acondicionan **("priming")** las células inflamatorias para una producción aguda de mediadores, otras pueden actuar directamente sobre las mismas células estimulándolas (factores liberadores de histamina, por ejemplo IL-8, MCP-1, RANTES, etc.).

**En el primer estadío de la inflamación**, por ejemplo en la fase inmediata de las reacciones alérgicas mediadas por IgE, se produce un edema por aumento de la circulación y de la permeabilidad de la microcirculación como consecuencia de la liberación de histamina y de la formación de leucotrienos. La PGD2, el LTC4 y el LTD4 son potentes vasodilatadores. Los PG de larga duración y los LT de corta. Además, la PGE2 bloquea la liberación de adrenalina por las terminaciones nerviosas simpáticas.

**En el segundo estadío** de la inflamación, por ejemplo en la fase tardía de la reacción alérgica mediada por IgE, se ve una invasión de células inflamatorias atraidas por numerosos mediadores quimiotácticos incluidos los derivados del ácido araquidónico, principalemte el LTB4. Además, el LTB4 provoca la exocitosis de los lisosomas. Por el contrario los derivados producidos por la vía de la ciclooxigenasa no tienen acción quimiotáctica, sino que actuan más bien aumentando el AMP cíclico que inhibe la liberación de lisozimas, histamina, LT y linfoquinas. La PGE2 inhibe el metabolismo de los leucocitos, la fagocitosis, la citotoxicidad y ciertas funciones del linfocito.

Las principales células inflamatorias atraidas al lugar de la reacción, ya sean eosinófilos,linfocitos T, monocitos y en algunas localizaciones basófilos, producen por su parte mediadores bajo la influencia de diversas citoquinas **(Fig. 48)**.

Como se ve, **el asma es pues producido por una interacción compleja de numerosas células y mediadores.**

## 2.4.3. Obstrucción bronquial. Las fases histopatológicas del asma.

Se ditinguen tres fases en la obstrucción bronquial **(Fig. 58)**. Estas están en parte superpuestas:

1) una **fase broncoespástica**;
2) una **fase de obstrucción debida al edema inflamatorio** del bronquio, al que se añade la secreción de moco;
3) **una fase inflamatoria subaguda, incluso crónica.**

Estas fases son desencadenadas en su inicio por mediadores liberados por los mastocitos, bien sea trás la reacción IgE-alergeno o bien debido a una degranulación no específica del mastocito (por ejemplo en el asma de esfuerzo, en una infección, etc.).

La **Figura 58** atrae la atención sobre los tres elementos que participan en la obstrución bronquial: **espasmo, edema** y **secreciones densas**. Es a este nivel donde actuan los tratamientos sintomáticos. Es el esquema que hay explicar al paciente para favorecer su colaboración.

# HISTOPATOLOGIA DEL ASMA

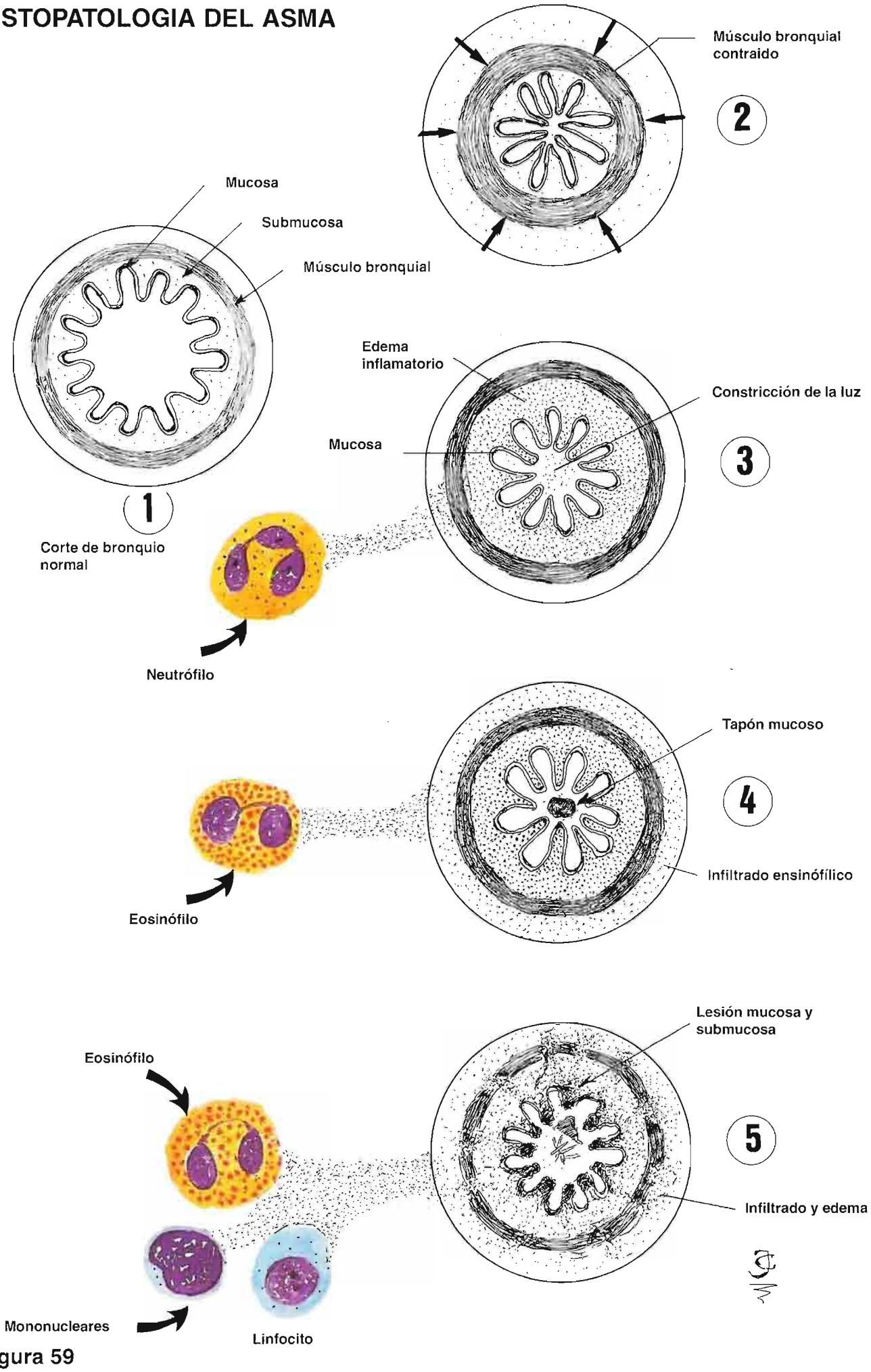



Figura 59

La **Figura 59** representa las secuencias histopatológicas del asma como aparecen trás una provocación experimental.

❶ Sirve de punto de referencia y muestra el esquema de un corte de un bronquio normal con mucosa, submucosa y músculo bronquial.

En ❷ un broncoespasmo. Esta **primera fase,** llamada precoz, es breve y se manifiesta por el aumento de la resistencia de las vías respiratorias. Aparece a los 10–15 minutos trás el contacto espasmogénico. En este estadío la obstrucción bronquial es reversible,ya sea espontaneamente o gracias a broncodilatadores simpaticomiméticos. Este broncoespasmo se atribuye esencialmente a la histamina y a la LTC4 liberadas por la degranulación de los mastocitos. Puede ser prevenido por el cromoglicato disódico y en menor grado por un antihistamínico H1. En este estadío, el mastocito libera también un factor quimiotáctico de los neutrófilos (NCF) y el LTB4. Esta acción quimiotáctica induce el comienzo de la reacción inflamatoria.

En la **segunda fase del asma**, llamada fase tardía, el broncospasmo se agrava por el edema inflamatorio de la mucosa y de la submucosa. Esta reacción aparece a las 5–8 horas trás el contacto con el espasmógeno.

Esta fase puede durar varios días y es mucho más grave que la primera. La reacción inflamatoria regresa lentamente. El esquema ❸ muestra la invasión por los neutrófilos atraidos por la activación del mastocito. En ❹ aparecen los esinófilos. Leucotrienos y prostaglandinas juegan un papel importante en esta fase tardía, causando el espasmo bronquial y agravando el edema de la mucosa y de la submucosa. Esta reacción es sensible a los corticoides que inhiben el metabolismo del ácido araquidónico y la producción de citoquinas. Durante esta fase se forman los tapones de moco impregnados de polimorfonucleares.

A continuación viene una **tercera fase subaguda** o **crónica** que se acompaña de una **inflamación severa**. Hay una infiltración masiva de eosinófilos y mononucleares. Junto a sus mediadores citotóxicos (MBP y otros), responsables de la citolisis de las células del epitelio bronquial **(Fig. 6)**, los eosinófilos liberan también leucotrienos que mantienen la broncoconstricción. De ahí el efecto beneficioso que podría tener una terapia que frenara o bloqueara la invasión por parte de los eosinófilos. Los esteroides y ciertos antihistamínicos, tales como la ceterizina, parecen intervenir a este nivel. Estas tres fases se pueden distinguir experimentalmente. En la práctica clínica, el asma se presenta sin embargo frecuentemente como el resultado de una inflamación bronquial crónica acompañada de episodios de broncoespasmos.

# 2.5. Urticaria y edema de Quincke

Distingimos la **urticaria aguda**, con una duración de horas a días, de la **urticaria crónica**, con una duración de semanas a meses, a menudo con periodos intermitentes de remisión. La primera es con frecuencia alérgica mientras que la segunda lo es raramente.

La urticaria puede presentar varias formas pero siempre va acompañada de lesiones papulosas ("picaduras de ortigas"). Las pápulas pueden ser pequeñas, medianas o en placas. La urticaria puede loalizarse en cualquier zona del cuerpo y se caracteriza por un prurito intenso que a menudo se acompaña de lesiones de rascado.

Una forma particular de la reacción alérgica cutanea aguda y edematosa es el **edema de Quincke** o **edema angioneurótico**: hinchamiento de la cara con edema de los labios, de los parpados ("ojos en ranura"), a veces del paladar blando y de la faringe (forma grave llamada "falso croup"), pero sin prurito. El edema de Quincke puede ser **familiar** y hereditario, debido a un deficit del inhibidor de la C1-esterasa.

Existe toda una serie de formas de urticaria. En la urticaria aguda alérgica y en el edema de Quincke encontramos a veces como causa (¡si se descubre!) un alergeno alimentario o medicamentoso, picaduras de himenópteros, neumoalergenos como los pólenes ("dermatitis de los prados"), alergias a pelos de animales, etc. El nerviosismo excesivo es a menudo nombrado, sino en la etiología al menos como causa desencadenante. Ciertas urticarias son de origen físico como la **urticaria solar**, **la urticaria al frío** o la **urticaria por presión**.

La etiología de la urticaria crónica no es en general alérgica y es el resultado de trastornos inmunológicos o neuroendocrinos complejos (disregulación del complemento, complejos inmunes criculantes en los neoplasmas,enfermedades autoinmunes, algunas infecciones como la mononucleosis, trastornos digestivos como las gastritis (nos podemos hacer la pregunta ¿hay liberación de histamina por la gastrina?). Hay también una **urticaria fotoalérgica** provocada por medicamentos llamados fotosensibilizantes como las fenotiazinas. Estos medicamentos se transforman en la piel, bajo el efecto de los rayos U.V. solares y liberan directa o indirectamente histamina.

La urticaria crónica plantea problemas de patología y etiología muy diferentes, mal conocidos.

El tratamiento de elección de la urticaria es por supuesto el evitar al alergeno responsable. Pero como en la mayor parte de los casos este alergeno no es identificado, el tratamiento esencial se basa en antihistamínicos.

La somnolencia provocada por ciertos antihistamínicos constituye a veces una ventaja en el tratamiento del prurito nocturno, pero este efecto secundario, molesto durante el día, es practicamente inexistente en los antihistamínicos más recientes como la ceterizina y el astemizol. Los corticoides son prescritos en circunstancias excepcionales.

Una enfemedad subyacente acompañada de urticaria debe ser vigilada e investigada (por ejemplo: la mononucleosis infecciosa) ya que numerosas afecciones se acompañan de urticaria. El uso terapéutico de gammaglobulinas da a veces, por razones todavía mal conocidas, resultados interesantes. Se ha postulado que cuando la urticaria es causada por pequeños inmunocomoplejos que no son eliminados, el tratamiento con gammaglobulinas los "aligera de peso" y así pueden ser eliminados por los macrófagos.

# 2.6. El eczema de contacto

Se llama eczema de contacto al eczema que aparece en el lugar en el que se aplica una sustancia no tolerada, alergizante, como por ejemplo en la alergia al niquel debida al contacto con los botones de los pantalones vaqueros, pendientes, pulseras de los relojes, etc. Se trata de un alergia retarda de tipoIV. El descubrimiento del alergeno es a veces dificil y precisa una anamnesis detallada. El alergólogo utiliza con este fin los test llamados **test de contacto o epicutaneos**. Estos consisten en la aplicación local del producto sospechoso, manteniendolo uno o dos días pegado a la piel con un esparadrapo especial. La interpretación de estos test no es siempre facil. Hay que evitar el identificar como reacciones alérgicas las reacciones irritativas o quemaduras. Por esta razón se emplean en estos test concentraciones bien conocidas en diluyentes neutros. En este terreno encontramos como responsables: medicamentos (por ejemplo pomadas de cloranfenicol, penicilina, neomicina, etc.), maderas exóticas, colas de epoxy-resina, alimentos (achicoria, alcachofa, etc.), joyas, etc. En suma un número considerable de sustancias. Los alergenos son en general **haptenos** que se combinan con proteinas de la piel para formar alergenos completos. Hay publicaciones especializadas con largas listas que enumeran las sustancias alergizantes,las concentraciones y los diluyentes a utilizar.

Sobre todo concierne a las peluqueras y a ciertas industrias de colorantes, de pinturas,de colas, de resinas sintéticas, de oleo-resinas, de antibióticos, albañiles (cromo del cemento), etc. Ciertos eczemas de contacto son por otra parte reconocidos por la ley como enfermedades profesionales.

**La alergia de contacto es de la competencia del especialista en dermatología.**

# 2.7. Eczema atópico

Se llaman "atópicos" a los sujetos que tienen tendencia a sintetizar IgE como respuesta a los estimulos alergénicos. El eczema atópico es a menudo la primera manifestación alérgica en los niños. Afecta sobre todo a los plieges de los brazos y de las rodillas, así como a las mejillas. Con frecuencia existe una predisposición alérgica familiar. Este eczema,se cura en cierto número de casos entre los 3 y 4 años o en la pubertad. Produce a menudo un aumento localizado del espesor de la piel, debido a las lesiones producidas por el rascado, que son facilmente sobreinfectadas ya que el prurito es intenso.

El asma puede aparecer cuando el eczema desaparece. A menudo se oye "se ha hecho desaparecer el eczema y aparecer el asma". Hay que explicar bien a los padres que el médico ¡no tiene este poder!. Nuestra experiencia en el campo del eczema nos obliga siempre a consultar la opinión del dermatólogo,ya que muchas lesiones cutaneas pueden parecerse en un momento dado al eczema. En ocasiones pueden ser necesarias biopsias.

En cierto número de casos aproximadamente el 30%, los brotes del eczema atópico pueden estar relacionados con una alergia alimentaria (por ejemplo a la leche o al huevo). La alergia a los ácaros es así mismo a veces la responsable. Las causas de exacerbación deben ser investigadas.

Es preciso luchar también contra el rascado y la superinfección, evitar el contacto con ropa irritante (polyester) y evitar el abuso de los corticoides locales. El dermatólogo podra dar consejos útiles. Los antihistamínicos orales están indicados para luchar contra el prurito.

Apesar de las numerosas teorías elaboradas la fisiopatología del eczema es todavía mal conocida.Las investigaciones se centran en la actualidad en el papel que juega la célula de Langerhans en el eczema. Estas células poseen gran cantidad de receptores para la IgE. Al entrar en contacto con el alergeno, ya sea por vía oral o por contacto directo con la piel, las células de Langerhans presentan el alergeno a los linfocitos T pero pueden así mismo ser estimuladas directamente y producir citoquinas inflamatorias responsables de las lesiones eczematosas.El eczema atópico se acompaña a menudo de niveles elevados de IgE. Estos elevados niveles en el niño son un signo pronóstico que indica que el niño puede sufrir asma en el futuro.

# 2.8. Pulmón de granjero y otras enfermedades por complejos inmunes de tipo III (Alveolitis alérgicas extrínsecas)

La **enfermedad del pulmón de granjero** es una afección que se ha vuelto poco frecuente y que afecta a los granjeros que manipulan el heno mohoso. Esto implica condiciones mediocres de almacenamiento de los cereales con mucho empolvamiento y humedad. El pulmón de granjero se da sobre todo en regiones lluviosas semimontañosas, como el Pais de Gales o el Cantal en Francia. Aparece principalmente en otoño e invierno. Afecta fundamentalmente a hombres adultos. El comienzo de la afección es progresivo y se presenta bajo la forma de una neumopatía febril con disnea, estado pseudogripal que aparece entre 8–10 horas trás la manipulación del heno o paja mohosos. Hay fiebre,escalofrios, dolores torácicos, cansancio, sudoración, cefalea y tos a veces acompañada de hemoptisis. Clínicamente hay algunos estertores crepitantes finos. En las formas típicas, la radiografía de tórax presenta infiltrados miliares o micronodulares. Posteriormente cuando la enfermedad se vuelve crónica, se asiste a la aparición de la fibrosis pulmonar progresiva, lo que conlleva una restricción. En los casos más avanzados aparece un bloqueo alveolocapilar que desemboca en el cor pulmonale crónico.

Los agentes responsables de la enfermedad del pulmón de granjero son los hongos, sobre todo el Micropolyspora faeni y el Thermoactinomyces vulgaris. En sangre encontraremos **precipitinas** específicas, esencialmente anticuerpos de la clase IgG. Esta afección esta clasificada dentro de las alergias de tipo III.

Otras enfermedades del mismo tipo son la **enfermedad de los criadores de pájaros** que es bastante común sobre todo en los criadores de palomas. Según los casos se encuentran en el suero precipitinas contra el suero de palomas, periquitos, pollos, faisanes (de criadero), pavos, etc.

**La aspergilosis broncopulmonar alérgica** de Hinson-Pepys (ABPA) provocada por el Aspergillus fumigatus, se acompaña de infiltrados pulmonares y de niveles elevados de IgE. Se trata de hecho de la asociación de una alergia de tipo I y una alergia de tipo III.

Son mucho más raras, dependientes siempre del tipo III: la fiebre de los patos (plumas de pato) la enfermedad de los queseros (hongos o ácaro siro), la bagazosis (hongo de la caña de azucar), la suberosis (por corteza de alcornoque), la sequoiosis (por serrín de madera), la inhalación de polvo de hipófisis (en la diabetes insípida), la enfermedad de los vendedores de grano y la recientemente aparecida enfermedad debida a los climatizadores de aire (contaminación de los depósitos de agua por bacterias u hongos).

Todas estas afecciones tienen en común la presencia de **precipitinas séricas** específicas. Sin embargo, en alguna de estas enfermedades, la presencia de precipitinas de la clase IgG no es suficiente por sí sóla para explicar las lesiones, ya que estas se puede encontar igualmente en individuos aparentemente sanos pero que esten expuestos al mismo antígeno (por ejemplo, criador de palomas). Se

# TEST CUTANEOS ALERGOLOGICOS

1 Alergenos para los test en concentraciones conocidas

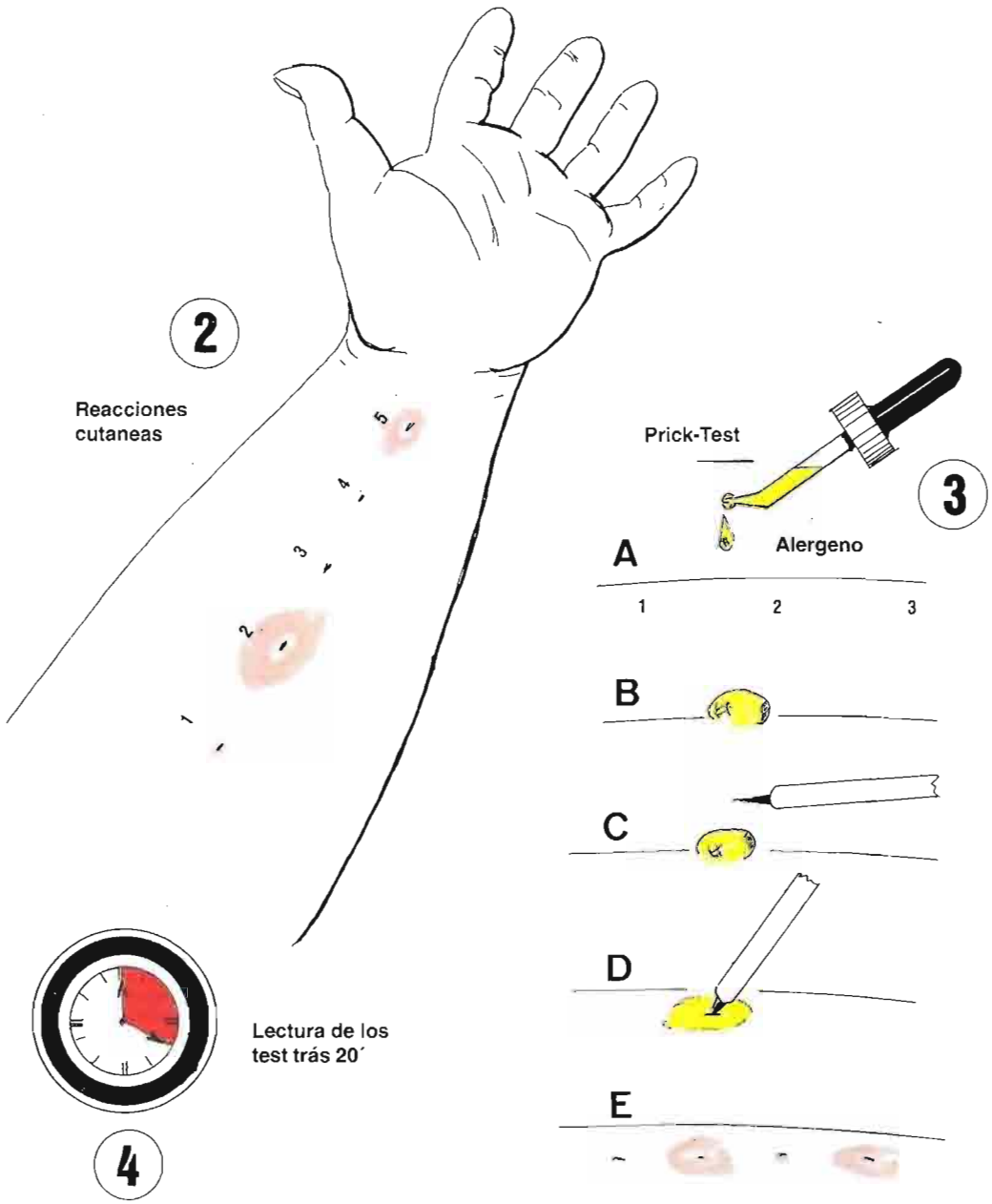



Figura 60

intuye la necesidad de una alergia asociada de tipo IV para explicar la patología.

En las enfermedades por inmunocomplejos causadas por inhalación, es importante antes de nada eliminar las fuentes de contaminación (vaciar los depósitos de heno mohoso, eliminar las palomas, los periquitos etc.) Estas enfermedades curan en general de forma espontanea, con excepción de la aspergilosis (ABPA). El único medicamento útil para su tratamiento es la cortisona. Las enfermedades por inmunocomplejos de curso prolongado pueden acarrear secuelas importantes, tales como el cor pulmonale crónico.

Las alveolitis extrínsecas presentan a veces problemas de diagnóstico diferencial (tuberculosis, sarcoidosis, colagenosis, etc.). El neumotórax espontaneo puede ser revelador.

# 2.9. Test cutaneos en alergología

Los test cutaneos son una aplicación práctica de la reacción de tipo I reservada al diagnóstico.

El alergólogo, dispone de una serie de alergenos en concentraciones conocidas, repartidos en frascos facilmente reconocibles **(Fig. 60 ❶)**.

El test cutaneo consiste en introducir en la epidermis o en la dermis una cantidad mínima de alergenos.

Hay varias técnicas de test:

- la **prueba de escarificación (scratch-test)** consiste en practicar una ligera escarificación y depositar en ella una gotita de alergeno.
- **la reacción intradérmica** consiste en introducir en la región intradérmica, con una jeringuilla provista de una aguja muy fina (jeringuilla para el test de la tuberculina) una pequeñísima cantidad de alergeno.
- **el prick-test** consiste en depositar sobre la piel una gotita de alergeno ❸. Utilizando un pequeño estilete especial se pincha a través de esta gotita. Es el test más utilizado.
- Citaremos para completar el **test epicutaneo** (patch-test) que consiste en depositar el producto a testar sobre la piel sana bajo la oclusión de un sello adhesivo. El desarrollo de un eczema local,después de 48 horas, permite precisar la etiología de una dermatitis de contacto. El test epicutaneo revela una alergia de tipo IV.

Numerosas sustancias irritantes provocan urticaria o eczema sin ser necesariamente causa de alergia. Por ejemplo, la reacción urticarial inmediata provocada por las ortigas o por sensibilización a diversas plantas (prímulas, tulipanes, geranios, fumarias, etc.).Ciertas reacciones cutaneas tienen claramente un origen corrosivo (por ejemplo la Diffenbachia, planta de interior, libera oxalatos corrosivos).

En las tres primeras técnicas, las reacciones se leen después de 20 minutos. Sea cual sea la técnica utilizada, si la reacción es positiva, a los 20 minutos aparece una pequeña pápula pruriginosa rodeada de una zona de eritema. Pápula, prurito y zona de eritema constituyen la **triada de Lewis**. Si la reacción es muy violenta pueden aparecer pseudópodos.

En ❷, se ven cinco test practicados en el antebrazo. El test 2 es frecuentemente positivo y el test 5 ligeramente positivo. Estos test pueden ser **falsamente positivos** en pacientes aquejados de dermatografismo o cuando se introducen en la piel ciertas sustancias llamadas histaminoliberadoras. Por esta razón, es necesario practicar un test control al mismo tiempo, con el diluyente utlizado para fabricar los test (control negativo), así como con una solución de fosfato de codeina o de histamina (control positivo). En efecto, puede haber test **falsamente negativos** cuando el paciente esta bajo el efecto de antihistamínicos o de sustancias con efecto antihistamínico (por ejemplo ketotifeno o ciertos antidepresivos tricíclicos).

Hay que evitar los antihistamínicos por lo menos tres días antes de los test y hasta cuatro semanas antes en el caso del astemizol. Por el contario los corticoides y los betamiméticos no perturban las reacciones.

Hay que conocer bien los alergenos utilizados para evitar el riesgo de reacciones violentas que pueden llegar hasta el shock anafiláctico.

Entre los alergenos más frecuentemente utlizados para los test cutaneos citaremos:

- **los ácaros** del polvo, especialmente el Dermatophagoides pteronyssinus y el D. farinae (este último sobre todo en Japón y en USA). Entre los ácaros mencionaremos también los **"ácaros de almacenamiento"** (Glycyphagus, Tyrophagus, Myacarus Centneri, etc.) susceptibles de desencadenar transtornos respiratorios en los sujetos que manipulan los cereales en los graneros y almacenes.
- **los pólenes**, sobre todo los de gramineas, de llantén, de compuestas como la artemisa y pólenes de árboles como el abedul y avellano. Los pólenes varian también de una región a otra. Así en USA, el ragweed o ambrosía juega un papel muy importante en alergología, mientras que la alergia a la parietaria y al olivo es más frecuente en el sur de europa y prácticamente desconocida allí.
- **la harina** usada por los panaderos y en profesiones anexas. La alergia a la harina puede ser reconocida como "enfermedad profesional" y ser objeto de una indemnización.
- **los pelos y caspa de animales** sobre todo gatos, perros (hay que destacar que la alergia puede deberse a una sóla raza de perros), los cobayas, los conejos,los hamsters, la crín de los animales de granja como el caballo y los bóvidos. Corzos, antílopes y liebres, pueden también provocar alergias en cazadores y criadores.
- **los hongos**: el problema de los hongos es mucho más complicado, ya que existen más de 100.000 especies de hongos clasificados. Los principales hongos de interés en alergología son la Alternaria, el Aspergillus, el Cladosporium y el Penicillium. Los extractos son en raras ocasiones puros y las reacciones cruzadas entre las diveras especies son numerosas.
- **los venenos de himenópteros:** los test con estos alergenos deben ser practicados con precauciones particu-

lares debido al riesgo de shock anafiláctico que pueden desencadenar, así como debido a la mala estabilidad de las soluciones de alergenos diluidos. Es mejor recurir al RAST.

- **los alergenos alimentarios:** en la práctica son a menudo decepcionantes, bien porque el extracto en sí no contenga los alergenos deseados (ciertos alergenos alimentarios son muy inestables y no están presentes más que en los alimentos crudos y frescos), o bien porque la alergia por vía digestiva no se acompaña siempre de una alergia cutanea correspondiente. Su manipulación y sobre todo su interpretación deben reservarse a los médicos especializados en este terreno.

# 2.10 Hiposensibilización

La alergia a ciertos Ag se presta bien a una vacunación específica. Esta vacunación es a amenudo llamada "desensibilización", término incorrecto, ya que no se desensibiliza, sino que se vuelve al sujeto menos sensible al alergeno. Se trata pues de una **hiposensibilización**. El principio de la hiposensibilización consiste en inyectar al alérgico dosis crecientes de alergenos. Esta técnica responde a reglas precisas. Si las dosis de vacuna son mal adaptadas pueden sobrevenir reacciones: locales (edema en el lugar de la inyección), sindrómicas (rinitis, asma) o generalizadas (urticaria y hasta shock anafiláctico). **El tratamiento de urgencia del shock anafiláctico es la adrenalina**.

La eficacia de la hiposensiblización ha sido confirmada por estudios bien dirigidos (doble ciego contra placebo) sólo para un número limitado de alergenos: los ácaros, los pólenes de gramineas, de abedul, de cedro de las montañas, de ragweed (ambrosía), los alergenos del gato, del perro y de algunos hongos (Alternaria y Cladosporium).

Algunas vacunas son muy eficaces (ácaros, pólenes) y otras lo son menos, pero pueden no obstante ser de utilidad (pelos de animales). Otras son relativamente eficaces pero peligrosas como por ejemplo algunos hongos, bien porque inducen la formación de precipitinas (como por ejemplo el Aspergillus), o bien por la frecuencia de reacciones adversas (como la Alternaria o el Cladosporium).

Los pacientes suceptibles de un tratamiento de hiposensiblización son en general alérgicos a pocos alergenos. No se es nunca "alérgico a todo". La elección de la composición de la vacuna se basa ante todo en la anamnesis y los test cutaneos (en menor medida en los test serológicos de detección de IgE específica, RAST y otros) y en caso de duda en test de provocación o de liberación de mediadores. Antes de empezar una hiposensiblización hay que considerar una posible exclusión de los alergenos. Sólo se incluirá en la vacuna el alergeno que juega un papel importante y no se aplicarán más de dos (raramente tres) vacunas simultanemente en el mismo paciente. Es desacosejable poner varios alergenos en el mismo frasco, ya que en caso de reacción adversa, es imposible determinar el alergeno que la causó y además es casi imposible reducir selectivamente la dosis del alergeno en cuestión. Por otra parte ciertos alergenos parecen ejercer por sí mismos una acción proteolítica sobre otros alergenos que pudieran estar presentes en el mismo frasco.

Una hipótesis sobre el mecanismo de la hiposensibilización sostenida durante mucho tiempo pero que se ha vuelto poco probable,es la aparición de IgG (por ejemplo IgG4) específicas y no alergizantes que entran en competición con las IgE alergizantes (se habla de **Ac bloqueantes**). Esta hipótesis postula que las IgG4 no citófilas neutralizan a los alergenos, antes de que entren en contacto con las IgE, suprimiendo así la degranulación de los mastocitos. Según los conocimientos mas modernos, la inyección del alergenos favorece la producción de linfocitos Ts (supresores), pero sobre todo de **linfocitos Th 1** a expensas de los linfocitos Th2. La gama de linfoquinas producidas se desplaza así a costa de las linfoquinas proinflamatorias (IL-4, IL-3, IL-5), lo que por una parte influye en la maduración de algunos linfocitos B con la consigiente disminución de la producción de plasmocitos secretores de IgE, y por otra parte diminuye la liberación de mediadores por las células inflamatorias implicadas (eosinofilós, mastocitos, basófilos).

Estos mecanismos no explican sin embargo la eficacia de las hiposensibilizaciones "rush" o aceleradas, en las cuales se produce entre otras un desgaste progresivo (y no explosivo) de los gránulos mastocitarios, liberados en pequeñas cantidades después de cada aplicación de la vacuna.

Parece que la vacunación actuaría más sobre la fase tardía que sobre la fase precoz del asma, debido entre otras a la acción sobre los linfocitos. Se están realizando numeroso trabajos para esclarecer el mecanismo exacto de la hiposensibilización así como para bloquear las IgE nocivas por otros medios diferentes a las vacunas (AC anti IgE o Ac antiidiotipos por ejemplo). Mientras tanto, se sigue usando el metodo clásico de hiposensiblización al que se han aportado grandes avances en lo que se refiere a la calidad de las vacunas. Uno de estos avances es el uso de vacunas retardadas, es decir vacunas que se reabsorben lentamente, minimizando así el riesgo de una sobredosis, permitiendo aplicar dosis de alergenos más elevadas y espaciar las inyecciones hasta aproximadamente una inyección por mes (tratamiento de mantenimiento). Una de las técnicas de fabricación de vacunas retardadas consiste en fijar los alergenos sobre un gel de hidróxido de aluminio. Así mismo se han preconizado alergenos químicamente modificados **("alergoides")** o polimerizados.

Edad de comienzo de la hiposensibilización: en la práctica, los niños pueden ser vacunados apartir de los dos años, incluso a partir de los 18 meses, es decir a partir del momento en el que el alergeno responsable haya podido ser identificado. Hay que saber sin embargo que los **test alergológicos y el RAST son positivos a partir de los 2–3 años**, siendo a menudo dificil el saber antes de esta edad a que se es alérgico. La decisión de vacunar también

a niños pequeños dependerá de la severidad de los síntomas, de los antecedentes familiares alérgicos, de la motivación y del contexto psicológico, así como de los resultados de los estudios que se están realizando actualmente para saber si una hiposensibilización practicada en una edad temprana tiene posibilidades de disminuir las alergias en el joven y en el adulto.

La hiposensiblización por vía oral o sublingual es todavía objeto de controversia,tanto desde el punto de vista de su eficacia como de su mecanismo, si bien algunos estudios recientes parecen favorables.

# 2.11. El tratamiento de las alergias de tipo I a grandes rasgos

En el marco de este libro no es posible entrar en los detalles y sutilidades de los tratamiento antialérgicos.

**Un estudio detallado antes de comenzar el tratamiento es la clave del éxito.** Hay que demostrar que existe una alergia y tratar de identificar el alergeno responsable. La **historia clínica** tiene una importancia capital: debe ser bien detallada. Para ello se necesita experiencia, se trata de una veradera investigación policial. El factor psicológico puede jugar un papel fundamental tanto en el adulto como en el niño.

Una vez sospechado el alergeno, se practicaran los **test cutaneos,** quizás algunos **test serológicos**, teniendo en cuenta que sólo un número limitado de alergenos se pueden investigar con estos métodos. a veces son necesarios otros examenes complementarios: radigrafias de tórax, de senos, pruebas de función respiratoria y análisis diversos.

La principal y más importante de las medidas terapéuticas es evitar el contacto con el alergeno nocivo,siempre y cuando esto sea posible. A veces no es facil, como en el caso de un perro o un gato querido, o incluso es imposible como en la alergia a los pólenes. En la alergia al polvo de casa, provocada en la mayoría de los casos por ácaros del género dermatophagoides, el evitar el contacto puede ser eficaz a condición de que sea enérgico: suprimir alfombras y moquetas, usar ropa de cama sintética, aspirado regular de colchones, recubrimiento de los colchones, utilizar edredones y almohadas con fundas impermeables, uso de acarizidas en forma de vaporizador (los aerosoles van a ser posiblemente eliminados del mercado debido al riesgo ecológico del gas propulsor), y cambio de los colchones antiguos. Por otra partre hay un "test de tiras" que esta comercializado en algunos paises (Acarex test®) que permite hacerse una idea de la concentración de ácaros en los colchones o en otros tejidos domésticos. Se basa en la determinación de la guanina excretada por los ácaros. Existe cierta correlación entre la actividad de los ácaros y el contenido de guanina en el medio. También es posible detectar los alergenos presentes en el polvo de casa por test inmunológicos.

Según el alergeno que se detecte y la gravedad de la alergia se tendrá en consideraración una **hiposensiblilización**.

El asma se considera en la actualidad por unanimidad como un enfermedad inflamatoria crónica así como una patología caracterizada por episodios de broncospasmo. Este estado de inflamación de las vías respiratorias está presente también en los pacientes asintomáticos, de ahí la importancia que se da en la actualidad a los **corticoides locales** inhalados (beclometasona, budenosida). Si aparecen ataques graves de broncospasmo además de los corticoides, están indicados los **broncodilatadores betamiméticos.** Estos mejoran los síntomas pero no curan el asma. El uso de cámaras de expansión o reservorios para la inhalación de medicamentos, como los corticoides y betamiméticos, aumenta notablemente su eficacia. La colaboración del paciente es esencial, sobre todo el uso individual del peak-flow meter. El uso de corticoides locales debe ser prolongado y precisa un seguimiento hormonal. La **teofilina** es todavía hoy muy utlizada, pero su efecto broncodilatador es bajo y su margen terapéutico estrecho (cefaleas, vómitos, nauseas, nerviosismo excesivo, etc., no son raros en niños) siendo precisos niveles sanguineos que no sobrepasen 10–20 µg por mililitro. Potencia los efectos secundarios de los betamiméticos (taquicardia, temblores). La combinación teofilina – betamiméticos no parece aumentar la eficacia de estas dos sustancias. El **ipratropium** y sus derivados en forma de aerosol tienen una acción vagolítica selectiva sobre los bronquios y pueden resultar eficaces en algunos asmáticos.

Los diferentes síndromes alérgicos serán tratados, si el factor inflamatorio es severo, con corticoides orales o inyectables, siguiendo directrices muy precisas. El **cromoglicato disódico** (DSCG) es utlizado como preventivo eficaz (inhalado ya sea con un Halermatic o un spinhaler o en aerosol). Se usa en forma de solución localmente en los ojos y en la nariz. En algunos paises es disponible en forma oral. Uno de sus derivados, el **nedocromil**, es eficaz y añade a los efectos del DSCG una acción antiinflamatoria marcada que permite en ocasiones reducir las dosis de corticoides. En al actualidad están en estudio ciertos medicamentos que permiten disminuir las dosis de los corticoides o de tratar los casos corticoresistentes (steroid-sparing drugs): se tarta sobre todo del metotrexate, pero también de la ciclosporina y del dapsone.

La acción del ketotifeno se asemeja a la de los antihistamínicos. A menudo no es bien tolerado (somnolencia, bulimia, etc.). Las opiniones concernientes a su uso preventivo, sobre todo en niños, están bastante divididas.

Los **antihistamínicos** son útiles sobre todo en las rinitis, conjuntivitis y en todas las afecciones pruriginosas. Algunos de ellos (ceterizina) podrían ser eficaces también en el asma al inhibir la afluencia de esosinófilos.

Los **antibióticos** se prescriben en caso de superinfección, lo que es más frecuente de lo que se piensa.

Una **psicoterapia** adecuada puede ser de gran utlidad, sobre todo en los pacientes alérgicos que a menudo sufren de ansiedad.

3ª Parte

# Elementos de patología inmune

## 3.1. Gammapatías

La elevación patológica de las inmunoglobulinas es debido a una proliferación anormal de los plasmocitos. La elevación puede ser de todo el conjunto de las gammaglobulinas: **gammapatías policlonales** o de una sóla clase de Ig: **gammapatías monoclonales**. La Ig en cantidad anormal recibe el nombre de **paraproteina**. Esta paraproteina se ve muy bien en las placas de electroforesis sérica donde aparece como una banda en la zona gamma.

El 1% de la población es portador de una gammapatía monoclonal benigna. Es necesario un seguimiento de larga duración, dada la posibilidad de proliferación clonal de linfocitos B.

Una simple estimulación antigénica puede hacer aumentar las gammaglobulinas. Las primeras en aumentar son la IgM y a continuación la IgG – **Figura 28**. El aumento anormal de las gammaglobulinas se ve en numerosas afecciones crónicas: sarcoidosis, tuberculosis, colagenosis, cirrosis, etc. Algunas afecciones inmunoproliferativas se acompañan de la síntesis de una sóla clase inmunoglobulinas o incluso de una sóla cadena de inmunoglobulinas. Estas afecciones se llaman **gammapatías monoclonales.** Son los mielomas, macroblobulinemia de Waldenström,la enfermedad de las cadenas pesadas y la enfermedad de las cadenas ligeras.

Existe también, en algunas afecciones o en ancianos, **crioglobulinas** que precipitan in vitro a +4°C (un test de contacto con un cubito de hielo provoca de manera muy rápida un edema local).

Cuando se produce una bajada de temperatura en el cuerpo, puede aparecer debido a estas crioglobulinas, una obstrucción vascular con edema, isquemia y ulceraciones. Encontramos estas crioglobulinas en la mononucleosis, en los mielomas, en la enfermedad de Waldenström y a veces también en pacientes en los que no se descubre ninguna afección.

## 3.2. Inmunodeficiencias

Al lado de las gammapatías, hay carencias inmunitarias que afectan bien sea a la inmunidad humoral, a la inmunidad celular o a las dos. A veces hay fenómenos superpuestos, como puede ser un déficit del complemento y de la fagocitosis.

### 3.2.1. Inmunodeficiencias humorales

Estas afecciones se caracterizan esencialmente por una susceptibilidad a padecer infecciones bacterianas. El recién nacido que posee IgG materna, puede presentar un retraso fisiológico en la fabricación de sus propias Ig (ver gráfica **Figura 27**). Habrá así pues un periodo crítico, de bastante corta duración, en el que el recién nacido es muy vulnerable: es el momento en el que ha eliminado la Ig materna pero todavía no está provisto de sus propias Ig. Entre las inmunodeficiencias graves citaremos la **enfermedad de Bruton** caracterizada por una ausencia de linfocitos B y una agammaglobulinemia.

Las **agammaglobulinemias** adquiridas aparecen principalmente en los neoplasmas con invasión y destrucción de los tejidos linfoides.

Las **disgammaglobulinemias** se deben a un defecto de síntesis de una u otra Ig. Las afecciones más conocidas son la **ataxia-telangiectasia** (déficit severo de IgA, atrofia cerebral y telangiectasias).

El **síndrome de Wiskott-Aldrich** se caracteriza por un déficit de IgM, un aumento de IgG e IgE, eczema, asma, infecciones de repetición, trombopenia y también déficit de los linfocitos T.

El **déficit selectivo de IgA**, a veces asociado a una tasa elevada de IgE, es relativamente frecuente. Un déficit de IgA se presenta en uno de cada 700 pacientes.

El **déficit de las subclases de IgG**, sobre todo el déficit de IgG 2, esta frecuentemente asociado a las infecciones respiratorias en la infancia y se trata con inyecciones de gammaglobulinas.

### 3.2.2. Inmunodeficiencias celulares

Este déficit conlleva una elevada suceptibilidad hacia las bacterias gram negativas, virus, micosis, micobacterias así como hacia la BCG.

Puede ser consecuencia de una insuficiencia tímica como en el **síndrome de Nezelof,** en el que hay un atrofia del timo con niveles normales de Ig, y en el **síndrome de**

**Di George**, en el que hay una aplasia del timo e igualmente niveles normales de Ig. Pero lo más común es que las inmunodeficiencias celulares aparezcan en el curso de un tratamiento inmunosupresor o como consecuencia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana VIH (HIV en terminología inglesa) responsable del **SIDA** o síndrome de inmunodeficiencia adquirida (**AIDS** en terminología inglesa). Este virus tienen un tropismo particular hacia los Th o T4 (CD4), en los que se multiplica hasta llegar a destruirlos. Las infecciones que se ven más a menudo en esta fase de la enfermedad son infecciones oportunistas como la neumonía por Pneumocystis carinii, abcesos cerebrales por el toxoplasma, tuberculosis, infecciones por mycobacterias atípicas, infeciones herpéticas (herpes simplex y zoster) y meningitis por criptococos. La enfermedad se acompaña de una linfopenia absoluta y a menudo de una hipergammaglobulinemia policlonal considerable. El sarcoma de Kaposi aparece frecuentemente en el SIDA y afecta fundamentalmente a la piel y al intestino.

La disminución de la inmunidad celular, y en particular de las reacciones cutaneas de tipo IV a los alergenos bacterianos y parasitarios es el fenómeno inmunológico más frecuente que se encuentra en el **envejecimiento.** Es la base de la menor resistencia a las infeciones, al cancer y la tendencia a las enfermedades autoinmunes que aparecen en el individuo al envejecer.

### 3.2.3. Inmunodeficiencias mixtas

En las inmunodeficiencias mixtas hay tanto un déficit humoral como celular. Es la **agammaglobulinemia de tipo Suizo** o **timolinfoplasia**. La muerte es precoz.

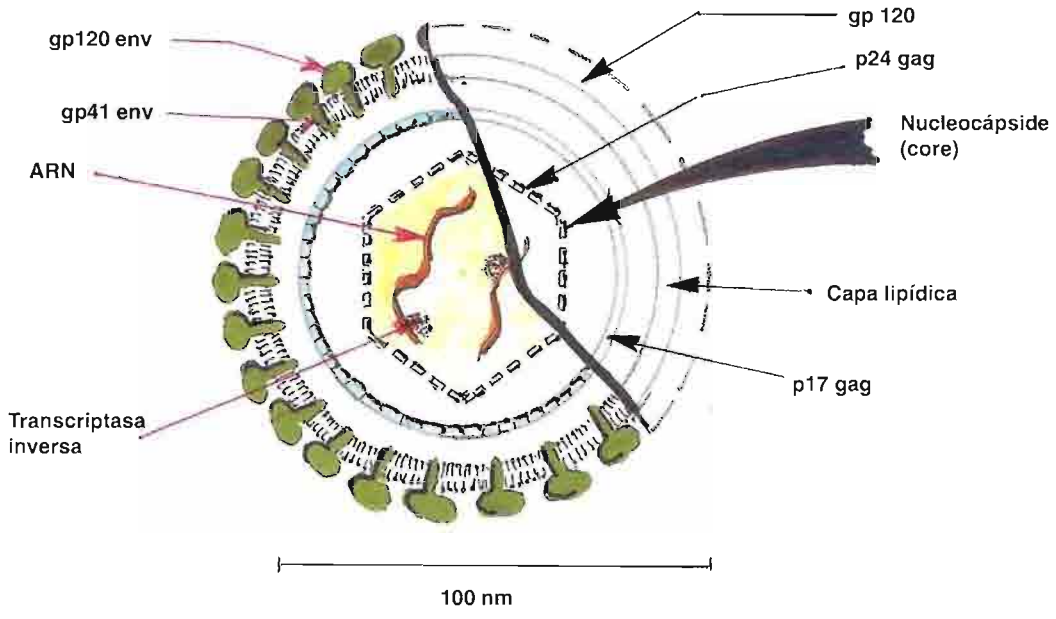
Las afecciones cancerosas, leucemias, Hodking, mononucleosis infecciosa, ciertas infecciones como la lepra y la tuberculosis, afeciones virales, en ocasiones la vanal rubeola y la malnutrición, conllevan carencias inmunitarias que a veces son temporales.

### 3.2.4. Inmunodeficiencias no específicas

Además de las inmunodeficiencias humorales y celulares hay deficiencias no específicas, que afectan a los **neutrófilos**, como pueden ser la disminución o ausencia cuantitativa de los neutrófilos, anomales en su función bacterizida y de fagocitosis, así como defectos quimiotácticos. Algunos de estos defectos pueden estar ligados al uso de medicamentos como el levamisol.

Existen también algunos **déficits del complemento**. El más conocido es el déficit del inhibidor de C1,la esterasa C1s, que es la causa del edema familiar de Quincke.

## A. ESTRUCTURA DEL VIRUS V.I.H. (SIDA)




## B. CICLO DEL VIRUS V.I.H.

virus V.I.H.
infección
Vibrión VIH
CD26
CD4
ARN viral
Expulsión
Unión
ARN VIH
ARN
Transcriptasa inversa
ADN
Membrana del linfocito T CD4
proteinas gag y env
ADN
ADN (provirus)
ARN viral
Núcleo del LyT CD4
Integración en el genoma del huesped
Activación celular

Figura 61

# 3.3. Inmunodeficiencia adquirida: el SIDA

El **SIDA** es un síndrome de inmunodeficiencia debido a la infección por el virus **VIH**, que puede ser transmitida por contacto sexual, por contacto prenatal o perinatal entre madre y niño o por contacto con sangre o productos sanguineos contaminados.

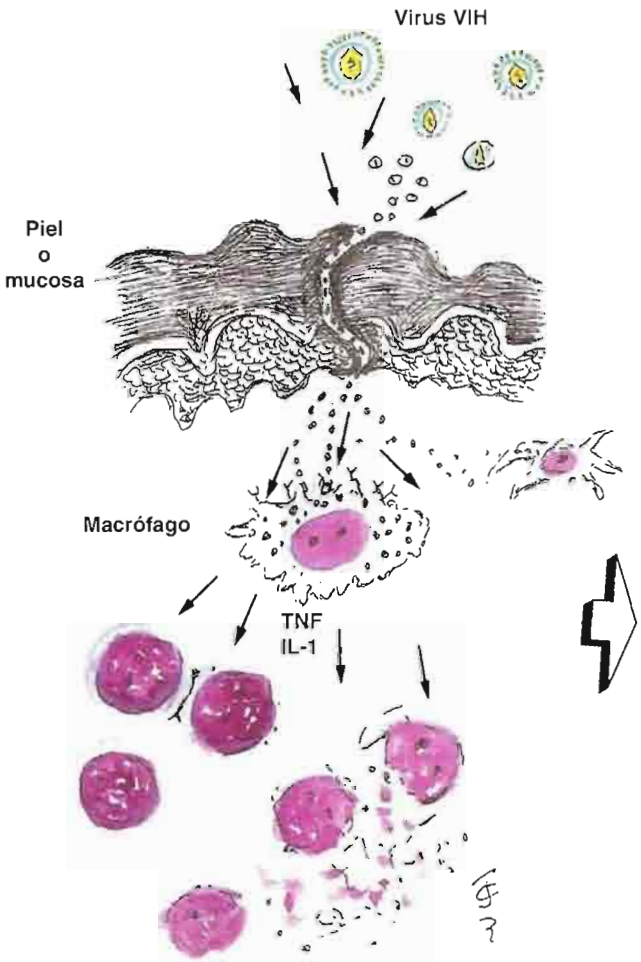
La infección por el VIH se manifiesta a veces por un síndrome pseudogripal a menudo acompañado de fiebre y rasch cutaneo, pero con frecuencia no presenta signos clínicos. Los primeros síntomas, que pueden tardar años en manifestarse, consisten en una poliadenopatía, pérdida de peso, sudoración nocturna y con frecuencia infeciones bucales de repetición por Candida albicans ("muget"). Cuando la inmunodeficiencia se vuelve más severa, el cuadro completo del SIDA se manifiesta particularmente bajo la forma de **infecciones oportunistas,** debidas a gérmenes en general poco patógenos, contra los que el organismo sano se defiende bien. Las infeciones pulmonares debidas al Pneumocystis carinii y a formas secundarias de mycobacterias tuberculosas (aviares, bovinas) son frecuentes, así como la aparición de ciertos tipos de tumores especiales como el **sarcoma de Kaposi** y el **linfoma Burkitt**. Una vez que el síndrome del SIDA esta plenamente declarado sigue un curso prácticamente siempre fatal, que no es forzosamente debido a la infección por el VIH en sí. De hecho las estadísticas más recientes indican que en condiciones higiénicas buenas y con seguimientos médicos óptimos, aproximadamente la mitad de los individuos infectados no han desarrollado el SIDA trás 10 años de infección. Esto pone en evidencia que algunos factores intrínsecos a la infección (cepas VIH más o menos virulentas), al individuo (forma de respuesta inmunológica anti-VIH) y otros factores asociados (tales como higiene, otras enfermedades venereas, infecciones asociadas, factores nutricionales, etc) pueden influir en la evolución clínica.De ahí que sea cientificamente injustificado el convertir, como pretenden todavía algunos, la asociación de diversos factores secundarios o adyuvantes en causa del SIDA. Existen numerosas causas de inmunodeficiencia adquirida que pueden presentar uno u otro síntoma similar a los del SIDA, pero el cuadro clínico característico de este síndrome de inmunodeficiencia y las anomalias inmunológicas y fisiopatológicas que le acompañan,tales como la disminución de los linfocitos T de clase CD4, son exclusivamente característicos de una infección causada por el VIH.

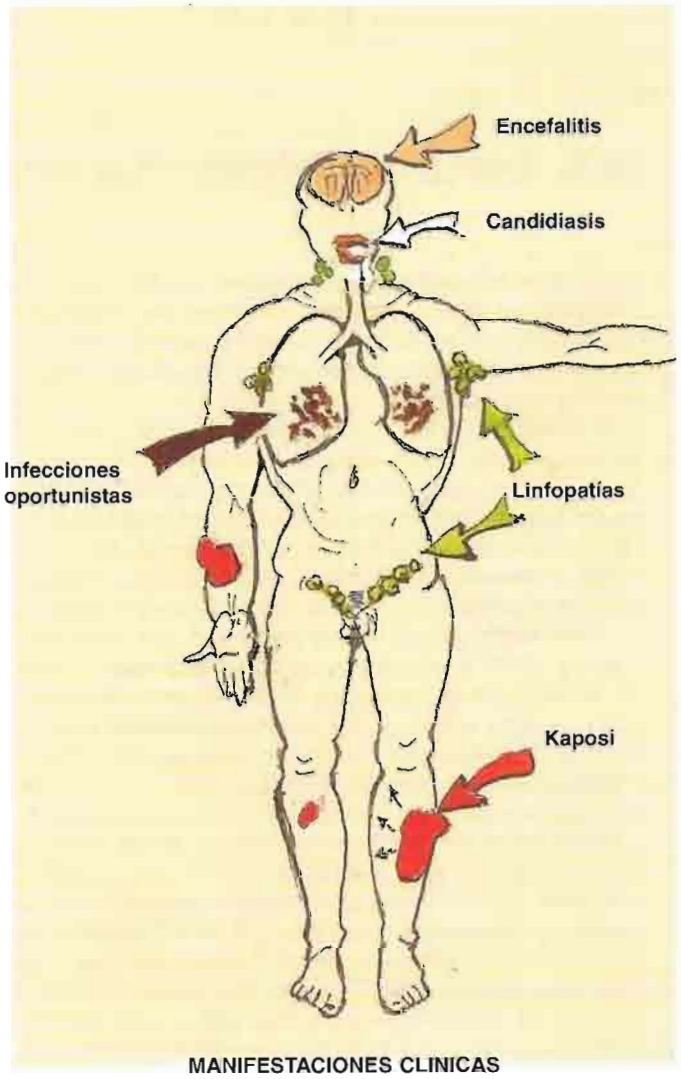
El virus VIH es un retrovirus ARN (se llama retrovirus ya se que se incorpora la genoma ADN del huesped), de estructura relativamente compleja **(Fig. 61, A)**. Sus constituyentes más importantes son el núcleo que contiene el genoma, constituido por cadenas aisladas de ARN, un enzima llamado "transcriptasa inversa" o polimerasa ADN y las proteinas de la cápside (determinadas por genes llamados "gag"). Las proteinas gag más importantes son la proteina p24 y p17. El núcleo viral está envuelto por una cápsula formada por una capa lipídica a la que se fijan las proteinas de superficie, dependientes de genes denominados "env". La más importante es una proteina denominada gp160, que se escinde en dos fragmentos gp120 y gp41.

El virus VIH tiene una atracción particular hacia las células humanas que poseen en su superficie el receptor CD4 y recientemente se ha visto que también hacia las que tienen el CD26, sobre las que se fija facilmente la proteina de superficie gp120 **(Fig. 61, B)**.Las células diana son en primera linea los linfocitos T CD4, así como algunas células de la linea monocitaria o macrofágica tales como las células de Langerhans y las células dendríticas. La fijación de una particula viral VIH sobre la membrana celular va seguida de la fusión de la membrana viral y celular por interacción de la gp41, liberando las cadenas de ARN libres en el interior de la célula. La "transcriptasa inversa" puede desempeñar entonces su papel, que es actuar sobre las cadenas de ARN produciendo las correspondientes cadenas de ADN características del virus VIH. Estas cadenas de ADN se incorporan al genoma del huesped, en donde pueden quedarse dormidas, en estado de "provirus" durante años. No obstante, bajo el efecto de una activación celular, la parte viral del ADN puede transcribirse de nuevo en sentido inverso, dando lugar a nuevas cadenas de ARN VIH. Estas cadenas de ARN van a generar por una parte las diferentes proteinas gag y env, y por otra parte se unen a nuevas cápsides nucleares, siendo finalmente expulsadas por la célula huesped.

La respuesta inmunológica a la infección VIH es compleja. Esta respuesta es tanto celular como humoral. La formación de anticuerpos, en particular contra las proteinas gp120, gp41 y gp24, aparece entre 2–3 meses después de la infección inicial **(seroconversión)**. Algunos anticuerpos producidos pueden tener un efecto protector y neutralizador. Sin embargo el hecho de que el virus ataque con predilección a los linfocitos T CD4, que son linfocitos helper indispensables en la respuesta inmunológica normal, desemboca tarde o temprano en consecuencias graves. Los mecanismos por los cuales el virus VIH causa una disminución progresiva del número de linfocitos T CD4 y un bloqueo de las defensas inmunológicas es todavía objeto de numerosas discusiones e investigaciones. Es cierto que la infección VIH afecta directamente a las células CD4, pero también influye indirectamente sobre otros sectores de la defensa **(Fig. 62)**. La complejidad de las reacciones causadas, así como la sutilidad con la que el virus puede escapar a los agentes inmunológicos de defensa, es una de las principales razones por las que el optimismo inicial concerniente a la vacunación contra el VIH ha dado paso a un cierto pesimismo. En efecto, la puesta en marcha de una respuesta inmunológica contra ciertos constituyentes (por ejemplo gp120) o contra virus muertos parece poco eficaz pudiendo ser capaz en ciertas circunstancias de ejercer un efecto facilitador y no protector sobre la infección VIH posterior. El pesimismo relativo actual esta justificado por el hecho de que no hay una sóla cepa del virus VIH, si no que existen numerosos mutantes más o menos patógenos, como en el caso del virus de la influenza.

## INFECCION POR EL VIRUS V.I.H.




## EVOLUCION INMUNOLOGICA DEL SIDA

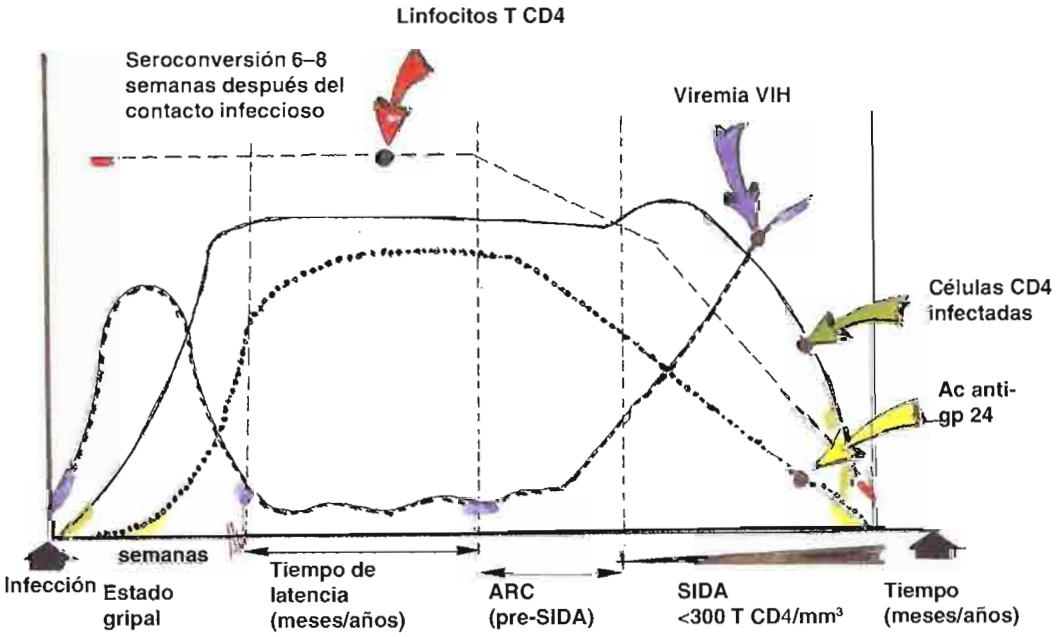



Figura 62A

Los ensayos terapéuticos (por ejemplo con la acidotimidina (AZT), que bloquea la acción de la "transcriptasa inversa") se basan en la actualidad en el bloqueo de ciertos procesos enzimáticos o transcripciones necesarias para la multiplicación del virus. Avances en ingeniería genética, que actuan sobre los procesos complejos de regulación de la transcripción ARN – ADN, están igualmente en estudio.

**Fig. 62: Destrucción del sistema inmune por el virus VIH Vía de infección:** El virus VIH o las células infectadas por él, penetran por las heridas cutaneas o mucosas ❶ e infectan a las células dendríticas, células de Langerhans y otras células de la linea macrofágica ❷. Estas células no mueren al producirse la replicación viral y sirven al mismo tiempo de reservorio y de transportadores del virus. El virus puede así mismo infectar a los linfocitos T CD4 que encuentra.

**Diseminación y evolución de la infección (Fig. 62, A).** El virus VIH afecta en primer lugar a los ganglios linfáticos (poliadenopatía) y al sistema nervioso central. Como consecuencia de la inmunodeficiencia provocada por la infección VIH, aparecen infecciones oportunistas (es decir causadas por gérmenes generalmente no patógenos) en general en la cavidad bucal ("muguet": candidiasis) y en los pulmones (por ejemplo pneumonía por Pneumocystis carinii). Se desarrollan así mismo frecuentemente tumores linfoides o cutaneos (sarcoma de Kaposi).

Desde el punto de vista inmunológico (gráfica), un primer periodo de viremia que se manifesta por un síndrome gripal pasajero es seguido de un tiempo de latencia más o menos prolongado durante el cual la única manifestación de la infección es la aparición de anticuerpos dirigidos especialmente contra los antígenos de membrana, tales como el gp120 y gp41. A continuación, cuando se produce una evolución clínica hacia el **pre-SIDA** (**ARC:** AIDS Related Complex) y hacia el **SIDA** declarado, se asiste a una disminución progresiva de los linfocitos T CD4 y a un aumento de la viremia acompañada de una disminución o desaparición aparente de los anticuerpos anti-gp24, compensados por el exceso de antígeno viral circulante.

# DESTRUCCION DEL SISTEMA INMUNE POR EL VIRUS V.I.H.

(principales mecanismos)

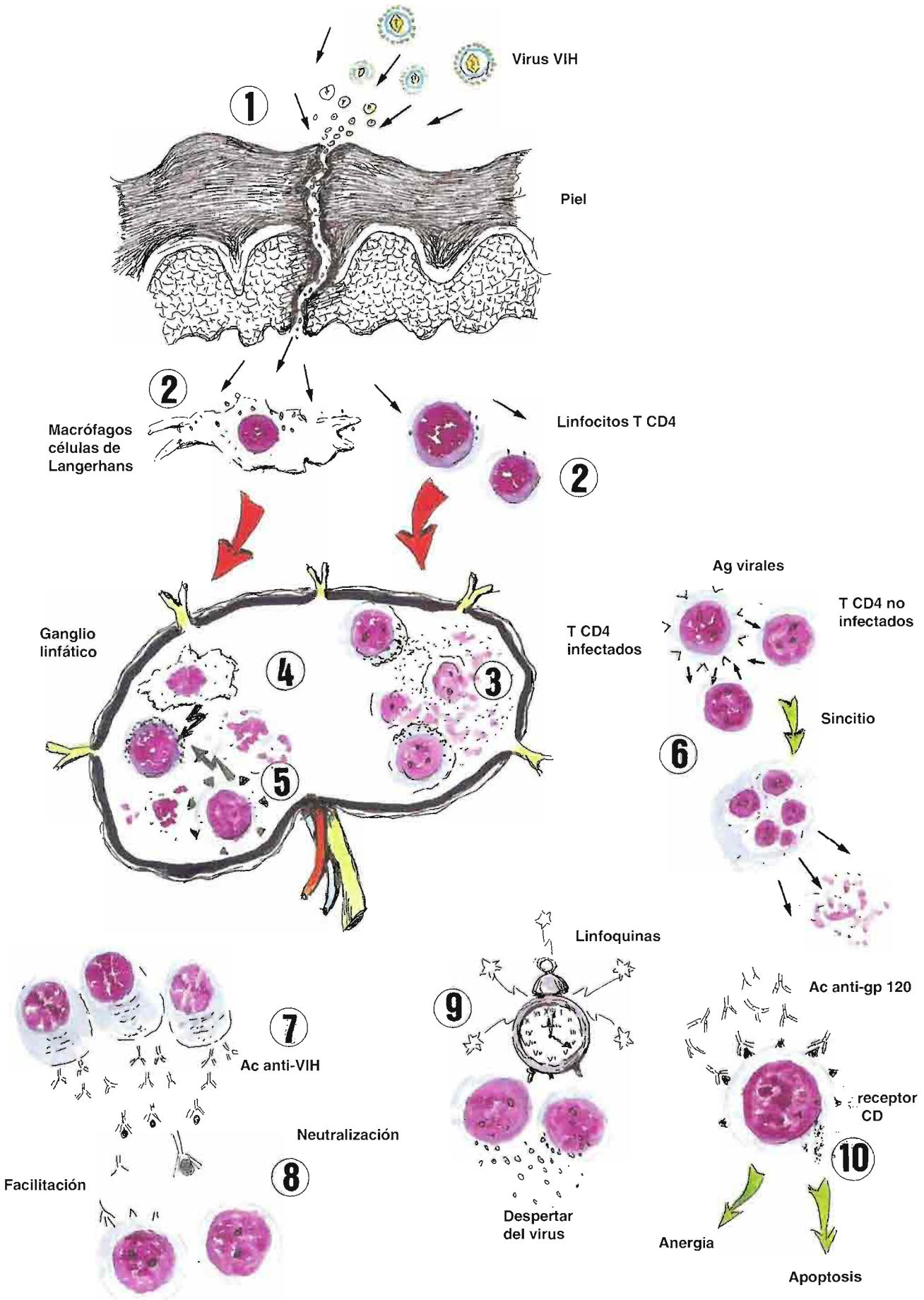


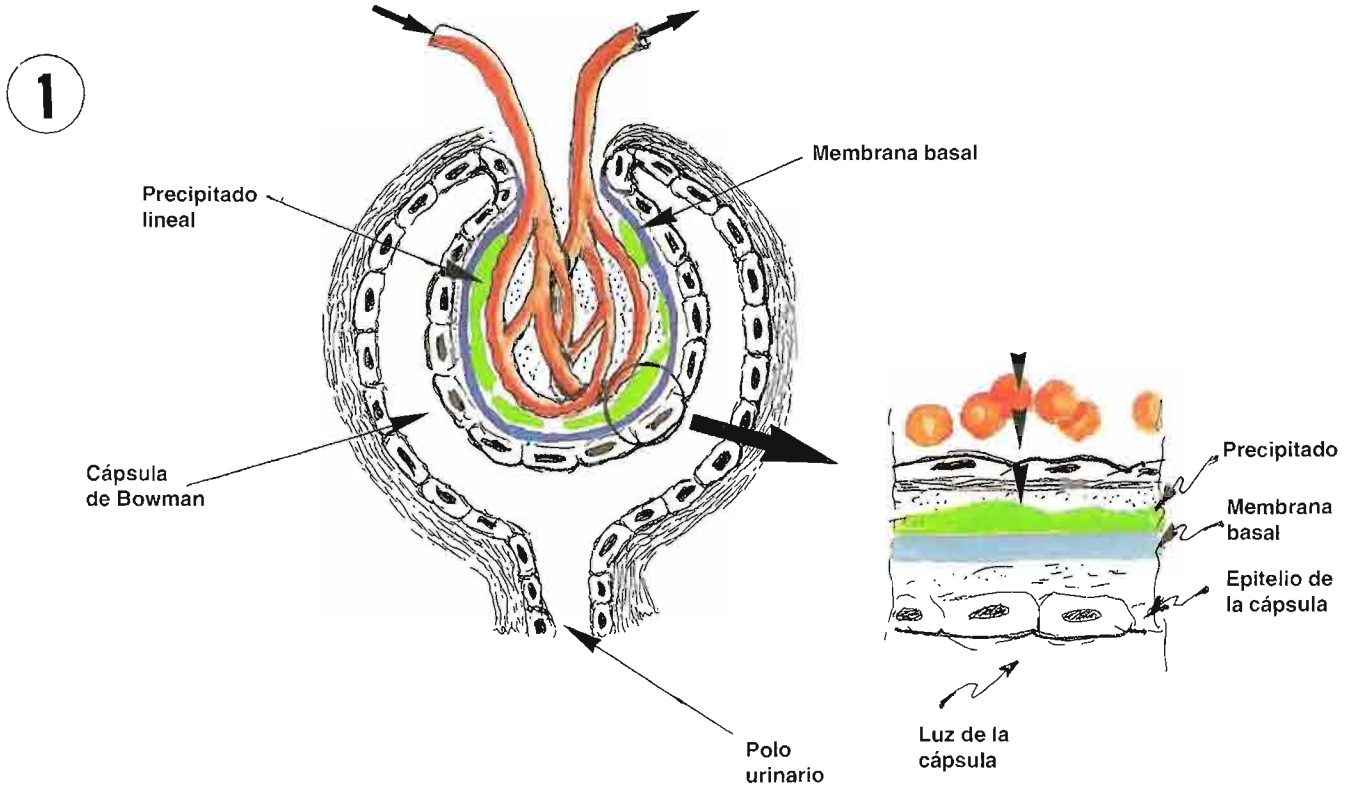

Figura 62B

**Principales mecanismos implicados en la inmunodeficiencia (Fig. 62 B).** Trás la invasión transmucosa o transcutanea por el virus VIH ❶ y su penetración en los macrófagos y linfocitos T CD4 ❷, diversos mecanismos directos o indirectos contribuyen al descenso de los linfocitos T effectores (CD4). Estos son en particular: ❸ el efecto citopatógeno de la replicación viral por abombamiento de la célula, ❹ la destrucción de las células T infectadas por macrófagos activados o por ❺ linfocitos T citotóxicos específicos para los antígenos VIH (por ejemplo péptidos de gp120). La interacción entre los linfocitos T que exprimen los antígenos virales ❻ y los linfocitos T CD4 puede desencadenar la formación y destrucción de células gigantes (sincitiales).

La formación de anticuerpos contra los antígeno VIH ❼ puede tener un efecto neutralizante pero también puede facilitar la infección celular formando complejos VIH-anticuerpo ❽. Diversos estímulos no específicos (por ejemplo linfoquinas) pueden favorecer el despertar del virus durmiente en un linfocito T infectado desencadenando una replicación viral acelerada ❾. Finalmente, la interacción del anticuerpo anti-gp120 o de antígenos gp120 solubles con receptores celulares CD4 ❿ puede llevar a una parálisis de las funciones celulares (anergia) o a la muerte lenta programada de la célula (apoptosis).

Elementos no específicos acompañantes a la infección viral, tales como la producción de ciertas linfoquinas con efecto supresor (por ejemplo TNF-β, interferón γ) por los macrófagos infectados ❷, una hipogammaglobulinemia y una estimulación relativa de los linfocitos T CD8,pueden contribuir además de a la destrucción de linfocitos T CD4, a la inmunodeficiencia progresiva que caracteriza al SIDA.

# INMUNOPATOLOGIA RENAL: MECANISMOS



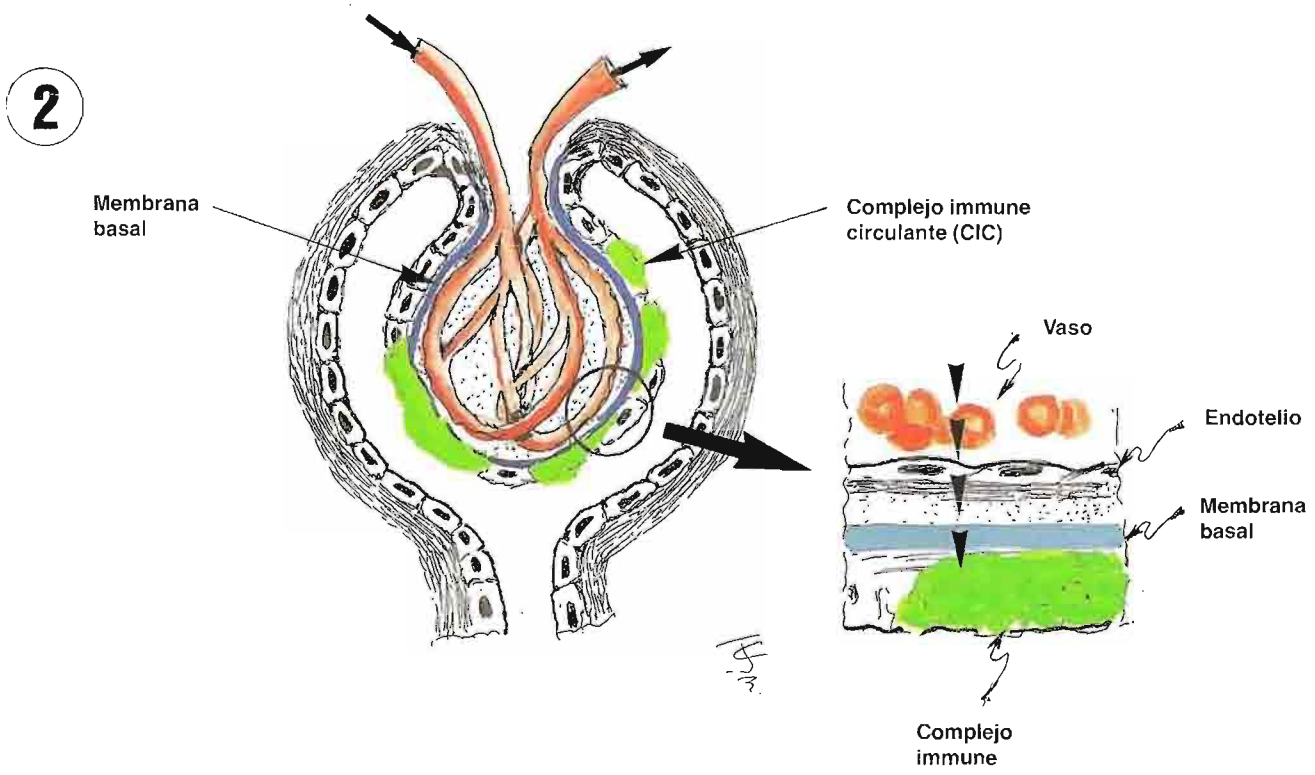




Figura 63

# 3.4. Inmunopatología renal

El daño renal es muy frecuente en el curso de enfermedades inmunológicas, bien porque el riñón es de por sí el órgano diana **(síndrome de Goodpasture),** o porque el fitro renal retiene deshechos inmunológicos susceptibles de provocar reacciones autoinmunes.

Experimentalmente si se inyecta a un animal extractos de riñón, este desarrolla Ac dirigidos contra el riñón y aparece un precipitado lineal sobre la membrana basal: un Ac antimembrana basal, después de atravesar el endotelio vascular, se fija sobre la membrana basal. Esta nefritis experimental se llama **nefritis de Masugi (Figura 63 ❶**).

El mecanismo común a la mayor parte de las glomerulonefritis (GN) de origen inmunitario involucra a los complejos inmunes (CI) **(Fig. 63 ❷**):bien sean CI circulantes (CIC) que son atrapados en el filtro renal, o sean Ag implantados en la membrana basal, que inducen secundariamente la fijación de Ac más o menos específicos. En la mayor parte de los casos, la presencia de estos CI provoca una activación del complemento, lo que desencadena una cascada de reacciones que pueden llevar a la destrucción del glomérulo afectado. Los test biológicos ponen en evidencia de forma variable los CI, una hipocomplementemia y anticuerpos antinucleares (AAN).

**Algunos ejemplos**: La **enfermedad de Beyer** se caracteriza por el depósito de IgA en el glomérulo a nivel del mesangio. Los CIC particulares (formados por IgA y fibronectina) pueden ser detectados. En la **glomerulonefitris del Lupus**, parece existir una relación causa – efecto entre la presencia de Ac anti-DNA, CI DNA – anti DNA y la nefropatía. En el **síndrome de Goodpasture**, se encuentran anticuerpos antimembrana basal glomerular y pulmonar específicos. En ciertas nefritis tubulo- intersticiales, en particular en las de origen medicamentoso, se ven también anticuerpos antimembrana basal tubular.

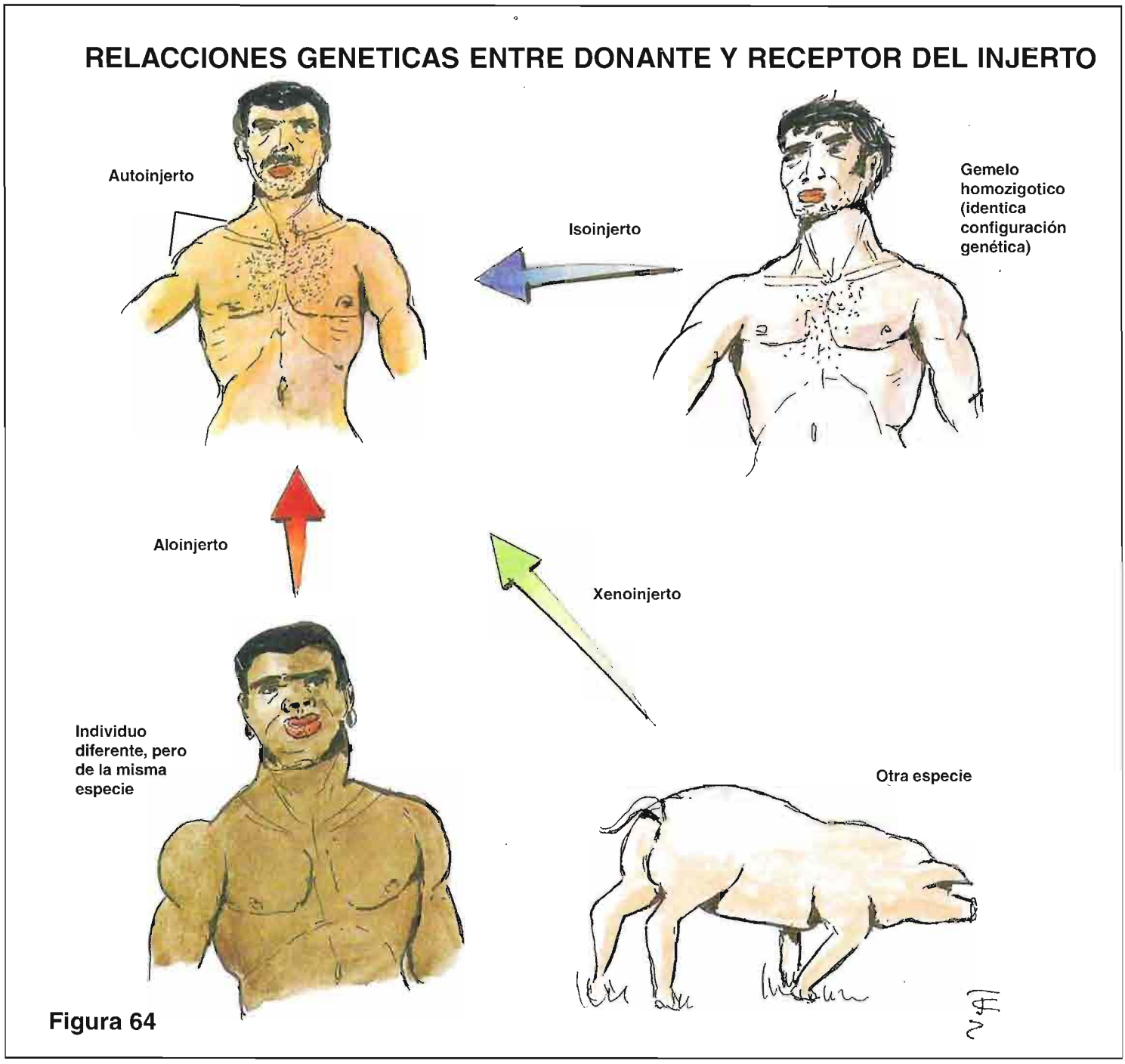



Figura 64

# 3.5 Transplantes de órganos: la reacción de rechazo

La inmunología del transplante es cada vez más importante en la clínica, tanto a nivel de los injertos celulares (transfusión sanguinea de médula) como de órganos (riñón, corazón, hígado, pancreas, pulmón, cornea, piel, etc.). Además los antígenos celulares individuales determinan la compatibilidad o incompatibilidad tisular **("histocompatibilidad")** jugando un papel importante en la inmunobiología, ya que participan en el fenómeno de reconocimiento y presentación de los antígenos.

La barrera inmunológica en los transplantes viene determinada por las diferencias genéticas entre donante y receptor **(fi.64)**. Esta barrera es nula cuando el donante y el receptor son el mismo individuo **(autoinjerto)** o un individuo genéticamente idéntico **(isoinjerto)**; y puede ser importante cuando el donante es un individuo diferente pero de la misma especie **(aloinjerto)** o de otra especie **(xenoinjerto)**.

La barrera inmunológica se debe fundamentalmente a la presencia de **antígenos de histocompatibilidad** sobre la membrana de numerosas células. Estos antígenos forman parte de diferentes sistemas, tales como el **sistema ABO** y el **sistema Rhesus**, bien conocidos por los problemas de histocompatibilidad en las transfusiones sanguineas y el **sistema HLA** ("Human Leukocyte Antigens") que constituye el **sistema mayor de histocompatibilidad CMH** (MHC: "Major Histocompatibility Complex") en los mamíferos.

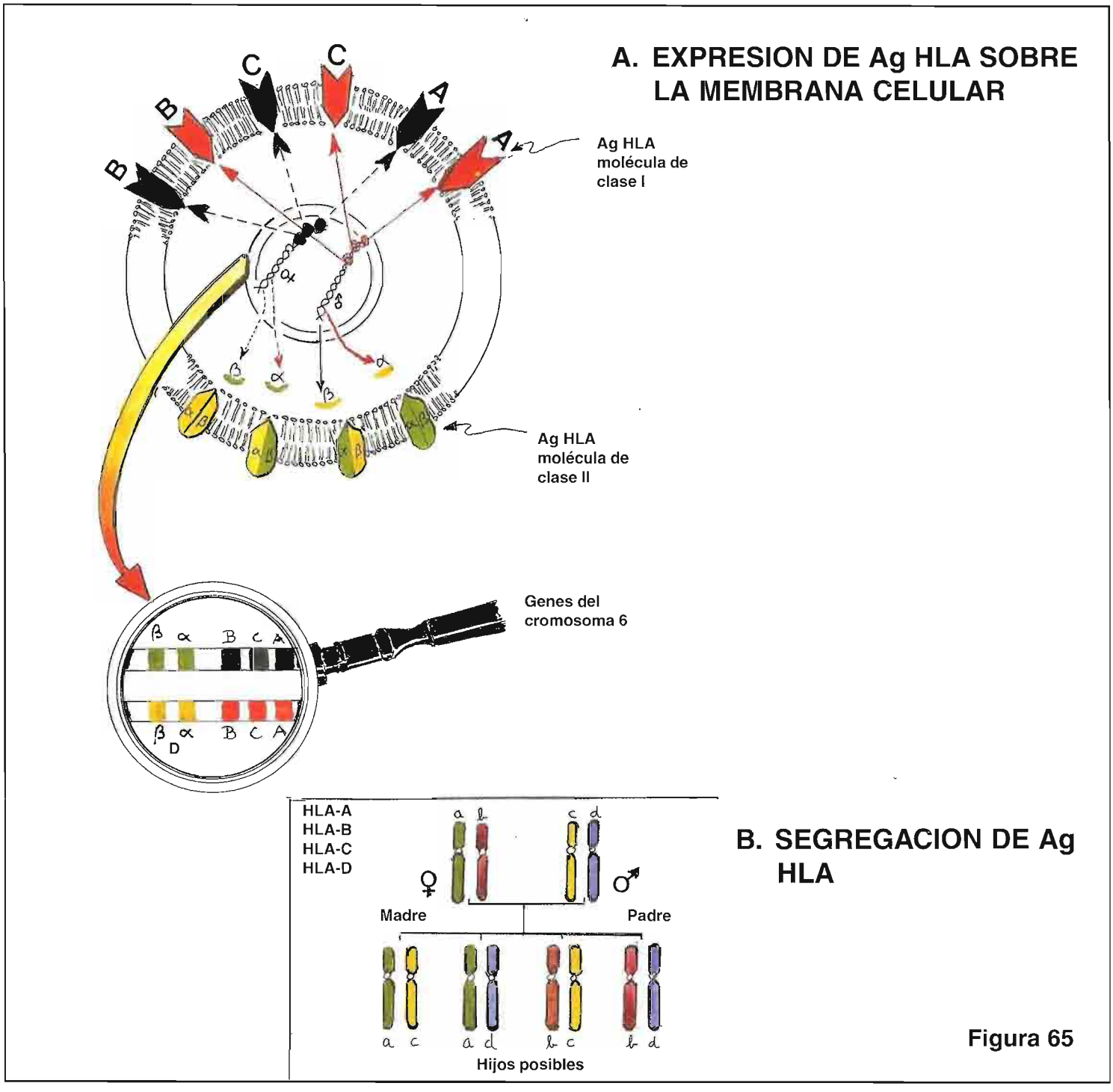



Figura 65

El **sistema HLA** está constituido por proteinas de membrana repartidas en dos clases: los **antígenos CMH de clase I** exprimidos bajo la forma de una sóla cadena polipeptídica y dependientes de tres locus genéticos A, B y C **(Fig. 65, A)** y los **antígenos CMH de clase II** constituidos por dos cadenas α y β. Los antígenos de clase II son dependientes de los genes pertenecientes al locus D y están localizados como los locus A, B y C en el brazo corto del cromosoma 6 **(Fig. 65, B)**. Los antígenos de clase I están presentes en la mayoría de las células nucleadas, mientras que la distribución de los antígenos de la clase II es más limitada,en particular están presentes en las células capaces de presentar al antígeno (células dendríticas, macrófagos, células B, células T activadas o células endoteliales). Los antígenos de clase I y II son también diferentes desde el punto de vista funcional: los de clase II participan en el reconocimiento del antígeno presente en los linfocitos efectores del tipo CD4 **(Fig. 21)**, mientras que los antígenos de la clase I son reconocidos por los linfocitos de tipo CD8 que juegan el papel de linfocitos supresores o citotóixicos.

Los antígenos de histocompatibilidad son exprimidos sobre las células de forma codominante, es decir que la presencia de un gen correspondiente al locus A, B,C o D proveniente del padre o de la madre se traduce sobre la membrana celular en el antígeno correspondiente **(Fig. 65, A)**. Los genes de los loci A, B, C y D son heredados en general

# MECANISMO INMUNOLOGICO DEL RECHAZO DEL INJERTO

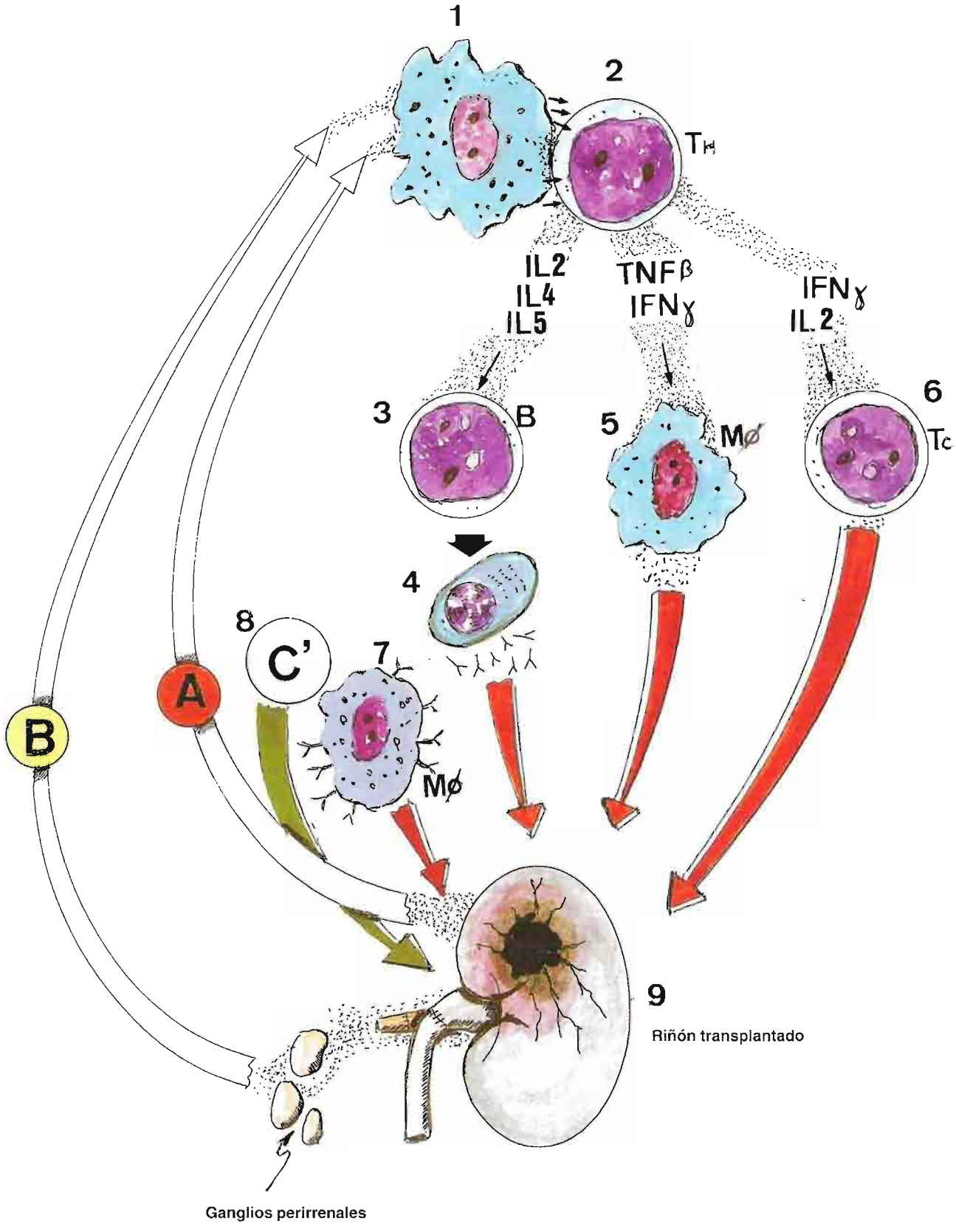



Figura 66

en bloque bajo forma de haplotipo a ó b (de la madre) y c ó d (del padre) **(Fig. 65, B)**. Así pues, hay en principio cuatro tipos de niños posibles y se puede encontar así mismo entre hermanos que no son gemelos homocigóticos, un hermano o una hermana que tenga una configuración HLA idéntica. De ahí el interés en buscar un donante HLA idéntico dentro de la propia familia para los transplantes y sobre todo para las transfusiones sanguineas de repetición.Por el contrario, dado que hay cerca de 80 genes alélicos diferentes conocidos para los loci A, B y C y 35 para el locus D, la posibilidad de encontrar una configuración HLA idéntica en un donannte potencial no emparentado es mínima.

Un transplante entre donante y receptor que no sean idénticos en cuanto a sus antígenos de histocompatibilidad conduce irremediablemente, sí el receptor posee un sistema inmune intacto, a una reacción inmunológica de rechazo. Los linfocitos T son los principales responsables de este fenómeno **(Fig. 66)**. Sin embargo, el mecanismo de las reacciones de rechazo es complejo. Se puede apelar al reconocimiento de los antígenos CMH, encontrados directamente en el injerto **(A)** a través de los ganglios linfáticos regionales **(B)**. Los antígenos MHC de clase II presentes en las células accesorias ❶ estimulan los linfocitos T del tipo T efectores (CD4) ❷, mientras que el reconocimiento de los antígenos CMH I de clase I estimula a los linfocitos T de tipo citotóxico (CD8) ❻. Estos linfocitos juegan un papel importante en la reacción de rechazo primario y crónico. La producción de diferentes citoquinas por parte de los linfocitos activados amplifica y desencadena fenómenos adicionales, tales como la activación de los macrófagos citotóxicos ❺, la estimulación de los linfocitos B ❸ y la producción de anticuerpos contra los antígenos CMH ❹. Estos anticuerpos pueden por su parte "armar" a las celulas citotóxicas (ADCC, **Fig. 66** ❼) o atacar directamente a las células endoteliales mediante la acción del complemento ❽. Todos estos mecanismos llevan al rechazo del órgano injertado ❾. Los anticuerpos anti-CMH, son los principales responsables del rechazo hiperagudo, por ejemplo cuando se hace un segundo transplante después de haberse rechazo el primero.

La prevención de las reacciones de rechazo es esencial para asegurar el éxito de los transplantes.Una primera medida consiste en reducir, en la medida de lo posible, las diferencias CMH entre donantes y receptores. Esto es posible en las intervenciones selectivas (por ejemplo riñón) al constituir bancos y redes de receptores para un donante en potencia. Así mismo es posible, de forma **no específica**, minimizar los fenómenos de rechazo, usando medicamentos inmunosupresores sobre la activación celular (esteroides), la produccion de citoquinas (ciclosporina) o la proliferación celular (azatioprina). Sin embargo, las intervenciones más **específicas** son objeto de investigaciones intensas, intentando evitar los efectos secundarios que acompañan a menudo al uso de los medicamentos inmunosupresores. La induccción de una tolerancia inmunológica mediante la administración de antígenos del transplante, en curso del desarrollo embrionario del receptor, posible en investigación inmunológica, es evidentemente impracticable en la clínica. Sin embargo la administración de antígenos de histocompatibilidad o anticuerpos correspondientes del adulto, en ciertas condiciones, permite atenuar el rechazo **(fenómeno de facilitación)**. En la actualidad se están realizando pruebas de introducción, por medio de tecnología transgenética (introducción de genes de un individuo a otro), de antígenos CMH humanos en especies animales, como el cerdo, que permimitarán hacer viable en un futuro la técnica de los xenoinjertos.

## FENOMENO GVH

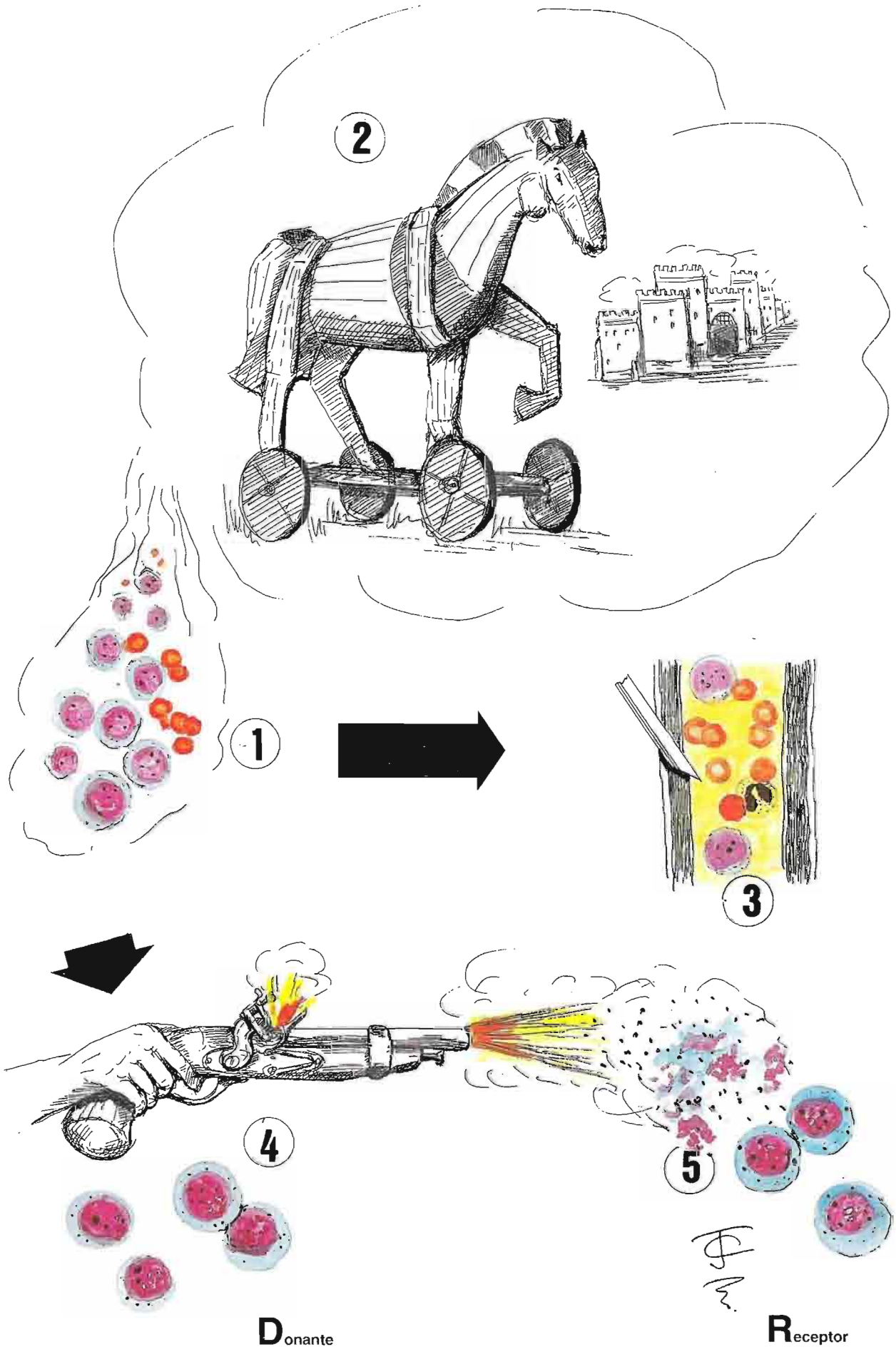



Figura 67

# 3.6. Reacción del injerto contra el huesped (GVH)

Se puede decir que en esta reacción es el injerto el que rechaza al injertado. Los linfocitos T inmunocompetentes contenidos en el injerto – fundamentalmente en los injertos de médula osea – atacan a las células del receptor pudiendo provocar lesiones inmunológicas graves e incluso mortales en las formas agudas (hígado, piel, intestino). El injerto contiene los linfocitos agresores y es un verdadero "caballo de Troya" dentro de la circulación del receptor, sobre todo cuando se trata de receptores inmunodeficientes.

La **Figura 67** esquematiza el fenómeno GVH: el injerto de médula ❶ es introducido en el organismo del receptor ❸ como un verdadero "caballo de Troya" ❷.

Una vez en el organismo,los linfocitos del injerto ❹ atacan y matan a los linfocitos del receptor ❺.

La reacción GVH no sobreviene naturalmente en el autoinjerto de médula, ya que las células injertadas son identicas a las del receptor.

Fenómeno curioso: cuanto más intensa y dominante sea la reacción GVH, menor es la recaida de leucemia. Este fenómeno llamado reacción injerto versus leucemia (GVL) está en estudio.

Otro prometedor factor en estudio, es el uso en los injertos de médula osea de un **"factor de crecimiento"** que estimule el crecimiento de las células madre, acelerando el que prenda el injerto.

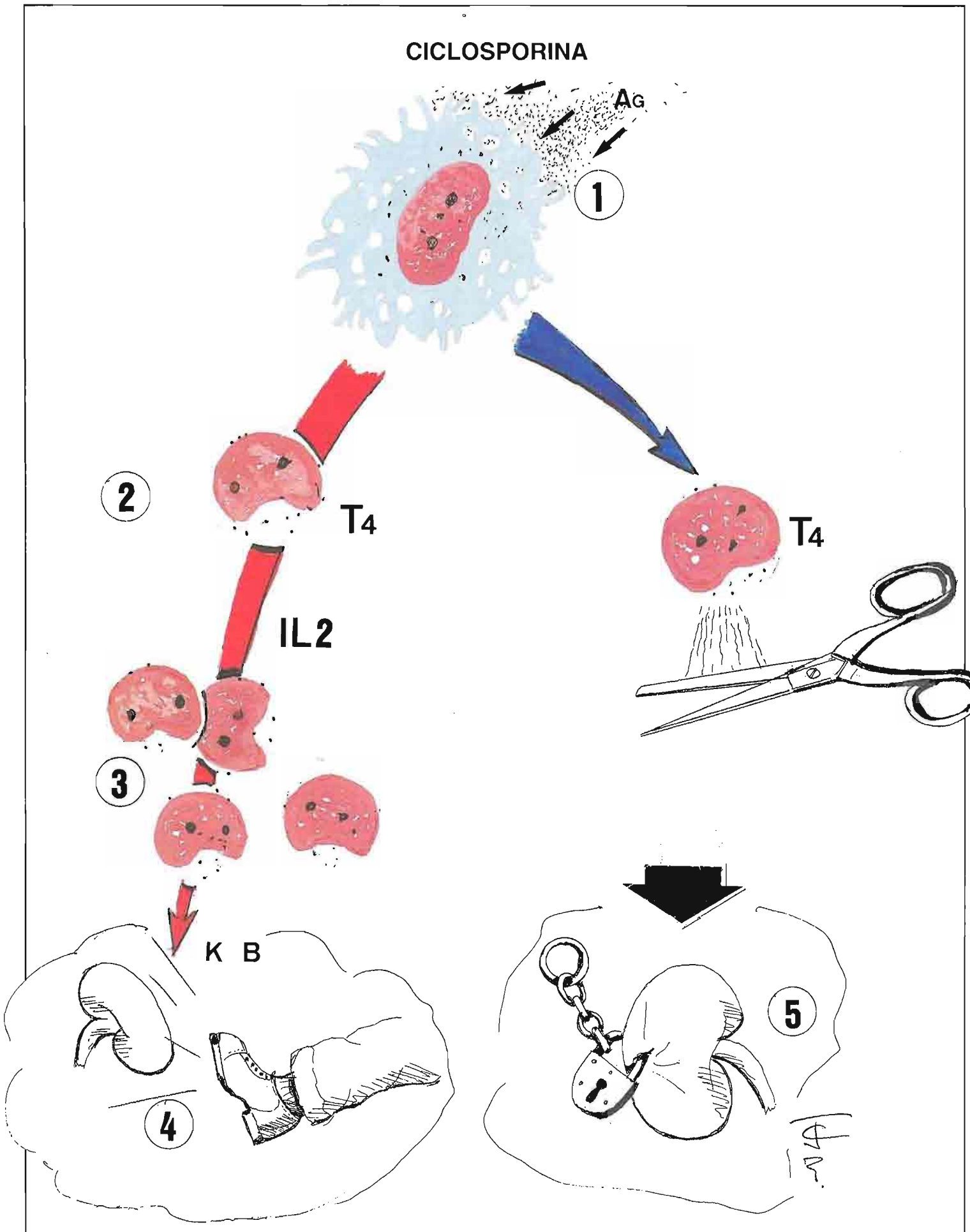



Figura 68

# 3.7. Tratamientos inmunosupresores

Las principales indicaciones de los tratamientos inmunosupresores son los injertos de órganos y las enfermedades autoinmunes. Los primeros medicamentos inmunosupresores fueron por una parte los antimicóticos (que actuan sobre las células en división) tales como la azatioprina, 6-mercaptopurina y por otra parte los corticosteroides (que suprimen la producción de varias linfoquinas necesarias para la respuesta inmune). A continuación, el descubrimiento de la ciclosporina constituyó un gran avance, seguido en la actualidad de nuevos derivados de acción similar y de otras estrategias biológicas entre las que citaremos los anticuerpos antilinfocitarios, las inmunotóxinas o ciertas citoquinas con efecto supresor (por ejemplo IL-10).

En ciertas condiciones, el cambio de plasma (plasmaféresis) o la inyección de gammaglobulinas, pueden así mismo tener un efecto supresor. La aplicación de los tratamientos inmunosupresores es de la competencia del especialista.

Como ejemplo, la **ciclosporina** es un inmunosupresor que se extrae de un hongo (Tolypocladium). Es poco tóxica y no es citostática. Inhibe principalemte la producción de interleuquina 2 y de otras linfoquinas por los linfocitos T. Así se produce una disminución notable de la proliferación de los linfocitos T 4 y de los linfocitos B. Recordemos que la interleuquina 2 es sintetizada por los linfocitos efectores T4 de clase Th0 y Th1 al ser estimulados por los macrófagos. La **Figura 68** resume el mecanismo de acción de la ciclosporina.

❶ Macrófago fagocitando Ag y presentandolos a los linfocitos T4.

❷ Linfocitos T4 secretando IL-2. Este mediador estimula la proliferación de los linfocitos B y de los linfocitos citotóxicos K (killer) ❸.

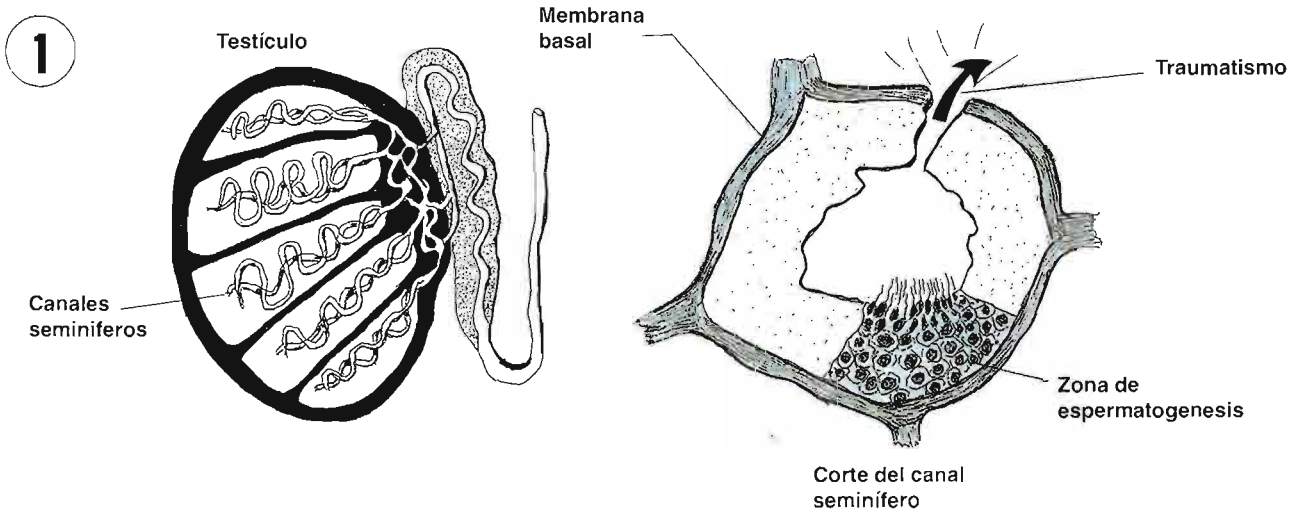
La ciclosporina es actualmente el medicamento más utilizado contra el rechazo de los injertos de órganos. El rechazo es debido sobre todo a los linfocitos T citotóxicos (K) y a los linfocitos B ❹.

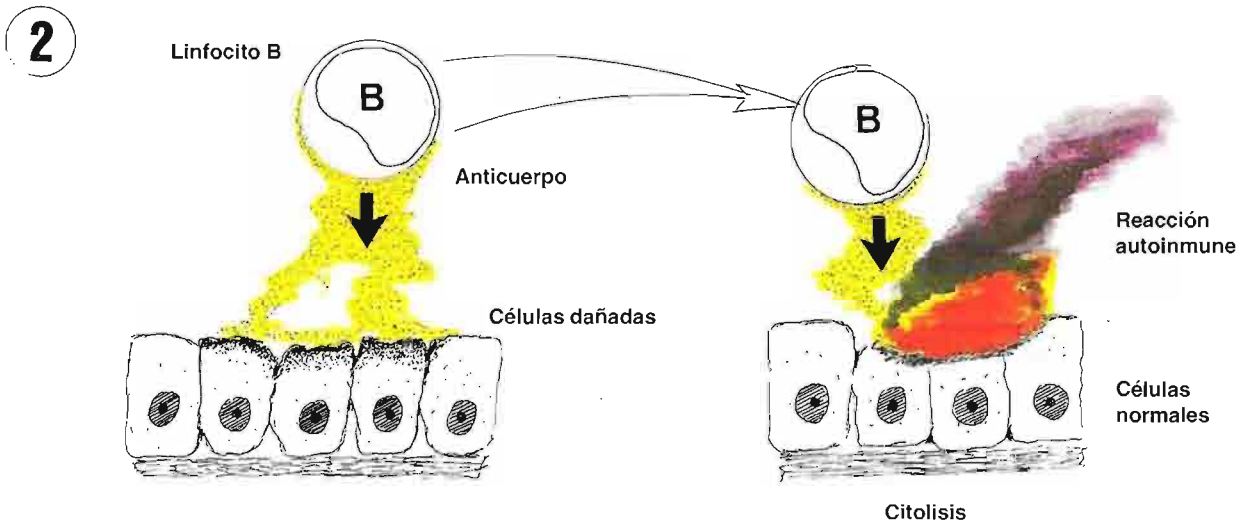
La ciclosporina, al neutralizar a los linfocitos, permite al injerto "prender" ❺.

Pero como siempre, en inmunoterapia existe la otra cara de la moneda. Al impedir la proliferación de los linfocitos K y B, hay un riesgo de infecciones (sobre todo virales) y de aparición de linfomas. Tanto las dosis como las asociaciones terapéuticas, son cuestiones reservadas a los especialistas.

En estos últimos años, las indicaciones del uso de la ciclosporina y de otros medicamento similares que actuan sobre la producción de linfoquinas, se han extendido de manera notable en el terreno de las enfermedades autoinmunes, así como en la diabetes insulinodependiente y en enfermedades inflamatorias tales como el asma corticorresistente, o enfermedades proliferativas, tales como la psoriasis.

# ENFERMEDADES AUTOINMUNES



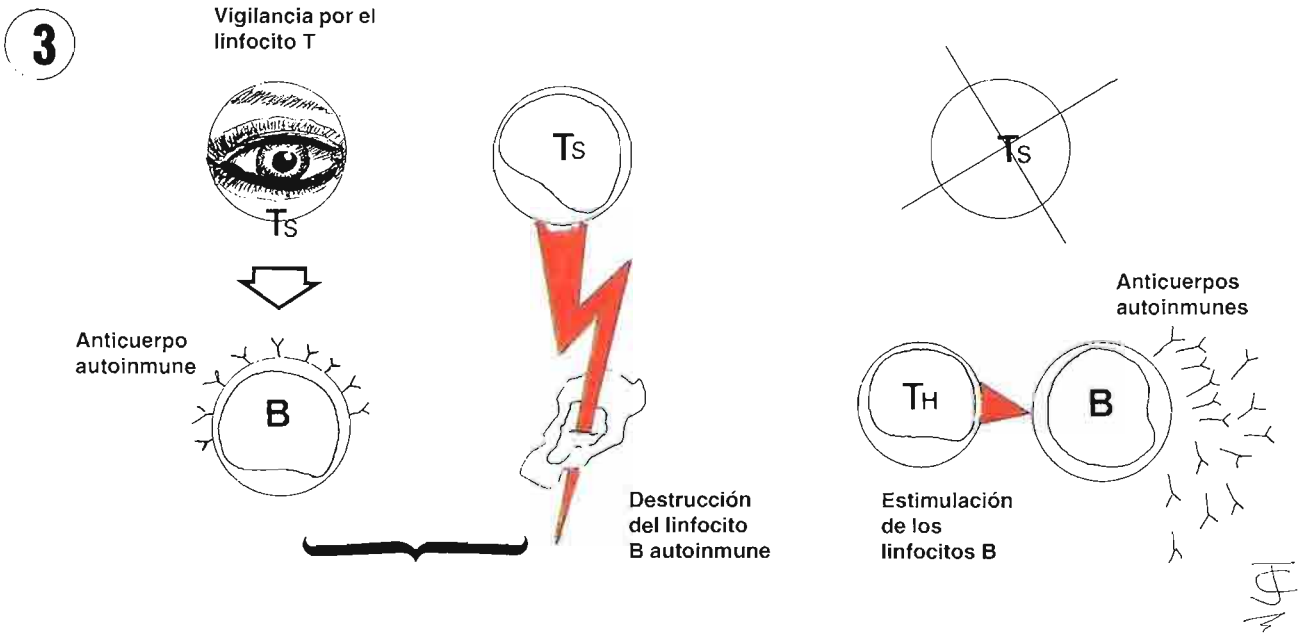




Figura 69

# 3.8. Enfermedades autoinmunes

Normalmente, el organismo no reacciona contra sus propios constituyentes. Son reconocidos como "propios". Sin embargo puede ocurrir, en condiciones anormales, que este equilibrio se rompa y que el organismo fabrique anticuerpos humorales y células linfoides inmunocompetentes dirigidas contra los propios antígenos tisulares del sujeto. Es importante distinguir entre una reacción autoinmune y una enfermedad autoinmune. La **reacción autoinmune** no conlleva una consecuencia patológica conocida. Se podría tratar de una reacción testigo o probablemente de una reacción dirigida a eliminar sustancias degradadas que corren el riesgo de convertirse en autoantígenos. Así pues, después de un infarto de miocardio, se encuentran en el suero anticuerpos antimúsculo cardiaco.Este tipo de anticuerpos no juega un papel patológico conocido.

Por el contrario, en las **enfermedades autoinmunes**, la reacción inmunológica tiene consecuencias patológicas. El mecanismo de estas reacciones autoinmunes es mal conocido. Se han postulado varias hipótesis pero ninguna es totalmente satisfactoria.

**1ª hipótesis: antígeno secuestrado – Figura 69 ❶**. Parece que a nivel de los espermatozoides y del cristalino del ojo hay antígenos que no tiene ningún contacto con el sistema inmune. Así, los canales seminíferos del testículo están totalmente aislados del sistema inmune, pero en caso de enfermedad o traumatismo, puede producirse una salida de células, que hasta ese momento eran desconocidas para el sistema inmune, y ponerse en contacto con los linfocitos del sujeto. La **orquitis**, complicación de las paperas, representa un ejemplo bien conocido. Lo mismo ocurre en el caso de la "**oftalmia simpática**" en la que trás el traumatismo ocular aparecen lesiones inmunológicas que se extienden al otro ojo. Las células que hasta entonces no habían estado nunca en contacto con el sistema de defensa del sujeto son consideradas como extrañas y desconocidas, de ahí la reacción inmunológica nociva.

**2ª hipótesis: los antígenos modificados**. Normalmente, el cuerpo reconoce sus propias células, pero si estas han sido modificadas por un medicamento, radiaciones, productos químicos o agentes infecciosos, pueden modificarse y volverse irreconocibles. En la **Figura 69 ❷**, se ven a la izquierda células dañadas. El linfocito B fabrica anticuerpos contra estas células. A la derecha estos mismo linfocitos B sensibilizados dirigen secundariamente sus anticuerpos contra las células normales del organismo provocando la citolisis. Basta una modificación mínima de las células autólogas para que estas no sean ya reconocidas como "propias" (como "self"). La reacción contra las células modificadas daña las células normales por inmunidad cruzada. Citaremos como reacción clásica, la aparición de un anticuerpo anti estreptococo hemolítico que ataca al mismo tiempo a los estreptococos y a la estructura de las válvulas cardiacas. Estreptococo y corazón tienen lugares antigénicos comunes. Esto hace posible la aparición de una edocarditis. Esta teoría no es sin embargo aceptada unanimamente. Se ha utlizado como argumento contra las vacunas bacteriológicas, pero no ha llegado a ser nunca demostrada.

**3ª hipótesis**. Se trata probablemente de la hipótesis más exacta pero la más dificil de demostrar. Vemos en la **Figura 69 ❸** a la izquierda el linfocito Ts (supresor) que vigila al linfocito B. Cuando aparecen los anticuerpos anormales sobre la superficie del linfocito B, la célula Ts los destruye inmediatamente (eliminación de **"clonas prohibidas"**).

Podría suceder que el linfocito Ts se disregule. En este momento, el linfocito B al no ser ya vigilado, fabrica anticuerpos que son dirigidos eventualmente contra las células del organismo. La célula B es además estimulada por la célula Th (efectora).

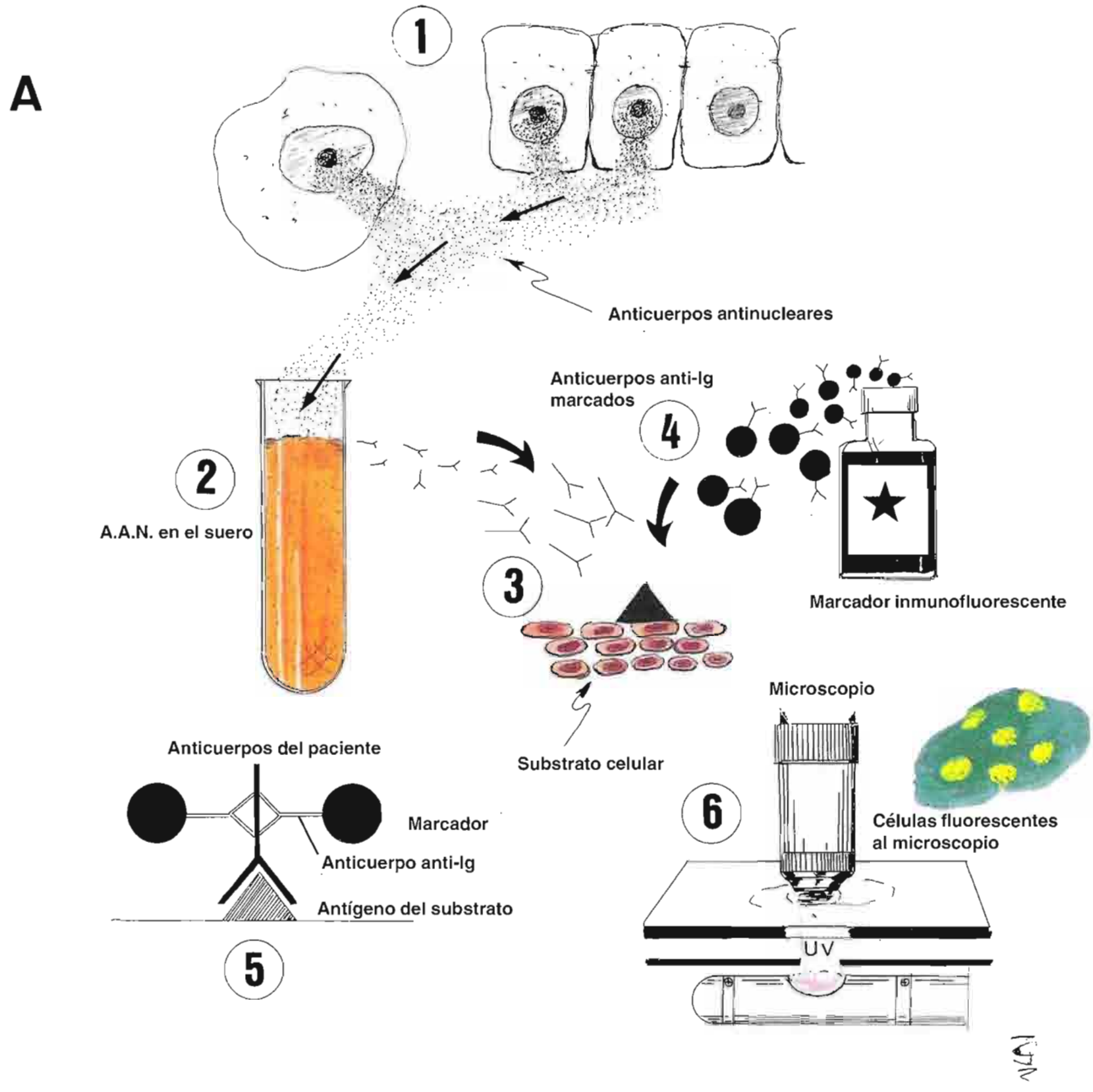
A pesar de que los mecanismos de la autoinmunidad no son todavía bien conocidos, juegan un papel importante en medicina. Citaremos algunas enfermedades como la encefalitis trás la vacunación contra la rabia, la encefalitis por el virus de la varicela o rubeola, la esclerosis en placas, la oftalmia simpática, la orquitis trás las paperas, la tiroiditis de Hashimoto, la anemia de Biermer, el lupus eritematoso diseminado, la poliartritis reumatoidea, etc.

En un buen número de casos, los anticuerpos responsables o que acompañan a estas reacciones autoinmunes van dirigidos contra los núcleos celulares **(anticuerpos antinucleares o AAN)**.

Estos anticuerpos van dirigidos contra uno o varios de los múltiples componentes del núcleo celular, en general contra el ADN (ácido desoxiribonucleico). En algunas enfermedades, fundamentalemente las colagenosis, se encuentran en sangre anticuerpos susceptibles de provocar lesiones inmunológicas severas. Estos se ponen en evidencia sobre todo por inmunofluorescencia indirecta.

Los anticuerpos antinucleares son múltiples y su identificación al microscopio debido a su fluorescencia cuando están fijados a las células, permite al especialista precisar su naturaleza. Las principales enfermedades en las que se encuentran AAN son el lupus eritematoso diseminado, la enfermedad de Goujerot Sjögren, la esclerodermia, la polimiositis, la artritis reumatoide, etc. Hay que señalar sin embargo, que estos AAN no son totalmente específicos de estas enfermedades.

# ANTICUERPOS ANTINUCLEARES



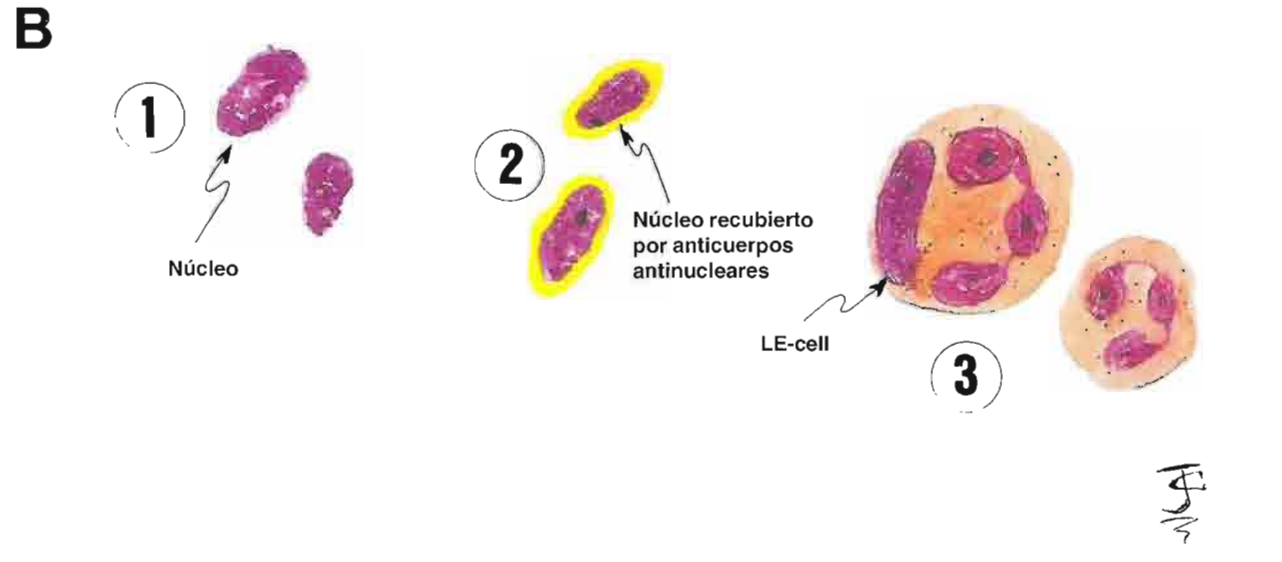




Figura 70

La **Figura 70 A** esquematiza la identificación de AAN por **inmunofluorescencia.** En ❶ se representan los antígenos específicos de los núcleos saliendo de la célula y provocando la formación de anticuerpos por estimulo del sistema inmune. Estos anticuerpos se encuentran en el suero del paciente ❷. Se aplica la técnica de inmunofluorescencia indirecta.

Se usa como substrato, es decir como antígeno, las células cuyo núcleo contiene una mayor cantidad de proteinas y de ácidos nucleicos ❸. Se pone el suero que contiene los anticuerpos en contacto con las células. El triangulo negro en ❸,representa el antígeno constituido por las células ricas en elementos nucleares (sobre todo en ADN). Actualmente se utilizan células del cancer de laringe humano o cortes de riñón o de hígado de ratones y recientemente se ha usado un protozoo: la Crithidia luciliae, que contiene gran cantidad de ADN. En ❹ se añade al complejo antígeno anticuerpo (el antígeno esta representado por el núcleo de las células usadas como substrato, el anticuerpo es el suero del paciente) un marcador (anti-anticuerpo marcado) que se vuelve fluorescente bajo el efecto de los rayos U.V. ❺ representa la reacción de inmunofluorescencia: el antígeno del substrato + el anticuerpo del suero del paciente + el marcador fluorescente. En ❻ se somete la reacción al efecto de los rayos U.V., lo cual convierte al marcador en fluorescente y así lo hace visible al microscopio. Sobre fondo oscuro se ven aparecer células fluorescentes (amarillo-verdosas, si se ha usado la fluoresceina). Estas células que se ven al microscopio son células del substrato que captan los AAN del suero. Se puede decir, en este caso, que hay AAN en el suero.

La identificación bioquímica precisa de los anticuerpos nucleares y su síntesis permite así mismo la detección y la caracterización de anticuerpos antinucleares por metodos inmunológicos serológicos clásicos (por ejemplo ELISA).

En la **Figura 70 B**, en ❶ los núcleos de una célula que ha sido diana de AAN (antinucleoproteina): el protoplasma ha sido destruido. En ❷ estos núcleos están recubiertos por anticuerpos antinucleares que los hacen reconocibles por los polinucleares no destruidos. En ❸ el núcleo es fagocitado por un polinuclear y da una imagen específica: se ve al lado del núcleo de la célula víctima el núcleo del polimorfonuclear. Esto constituye la **célula de Hargraves** o **LE - CELL**, que se encuentra en ciertas enfermedades como el lupus eritematoso diseminado (L.E.D.), fundamentalmente en las células extraidas por punción esternal.

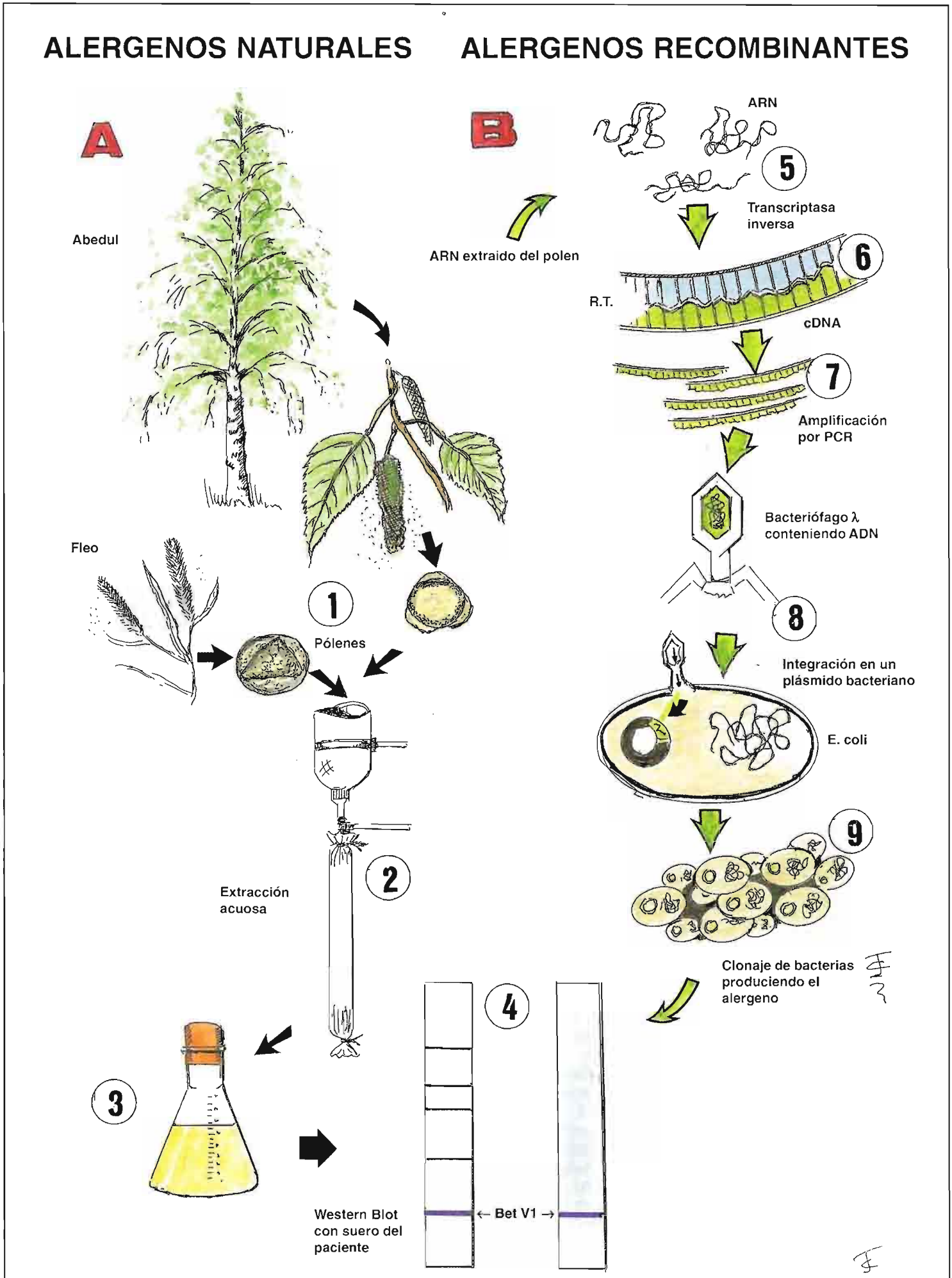

ALERGENOS NATURALES
ALERGENOS RECOMBINANTES
A
B
Abedul
Fleo
1
Pólenes
2
Extracción acuosa
3
Western Blot con suero del paciente
4
← Bet V1 →
ARN extraido del polen
ARN
5
Transcriptasa inversa
6
R.T.
cDNA
7
Amplificación por PCR
Bacteriófago λ conteniendo ADN
8
Integración en un plásmido bacteriano
E. coli
9
Clonaje de bacterias produciendo el alergeno

Figura 71

5ª Parte

# Test inmunológicos in vitro

Existen numeroso test inmunológicos "in vitro", con múltiples variantes. Decribiremos brevemente los más comunes, ampliamente utilizados en el diagnóstico de las enfermedades inmunológicas y alérgicas.

## 5.1. Inmunodifusión

La inmunodifusión, desarrollada por Ouchterlony, es uno de los principales métodos usados en inmunología **(Fig. 81)**.

Un gel de agar se vierte sobre una placa de vidrio del tamaño aproximado de un "porta". En este agar, se escava un pocillo central y pocillos periféricos. En el pocillo central se deposita el suero que contiene el anticuerpo a estudiar ❶. En los pocillos periféricos, se deposita el o los antígenos ❷

Al cabo de un tiempo, se produce en el agar una difusión del antígeno hacia el anticuerpo apareciendo un precipitado en el punto de encuentro. El **precipitado** ❸ es debido a los anticuerpos precipitantes, llamados precipitinas, que en general son inmunoglobulinas de la clase IgG o IgM.

Esta técnica es utlizada frecuentemente para poner de manifiesto, en la sangre de un paciente, la presencia de anticuerpos anti-suero de palomas (enfermedad de los criadores de pájaros) o anti-heno mohoso (pulmón de granjero) o anti-Aspergillus (infiltrado pulmonar fugaz) etc. (hipersensiblilidad de tipo III).

# IMUNODIFUSION RADIAL SEGUN MANCINI

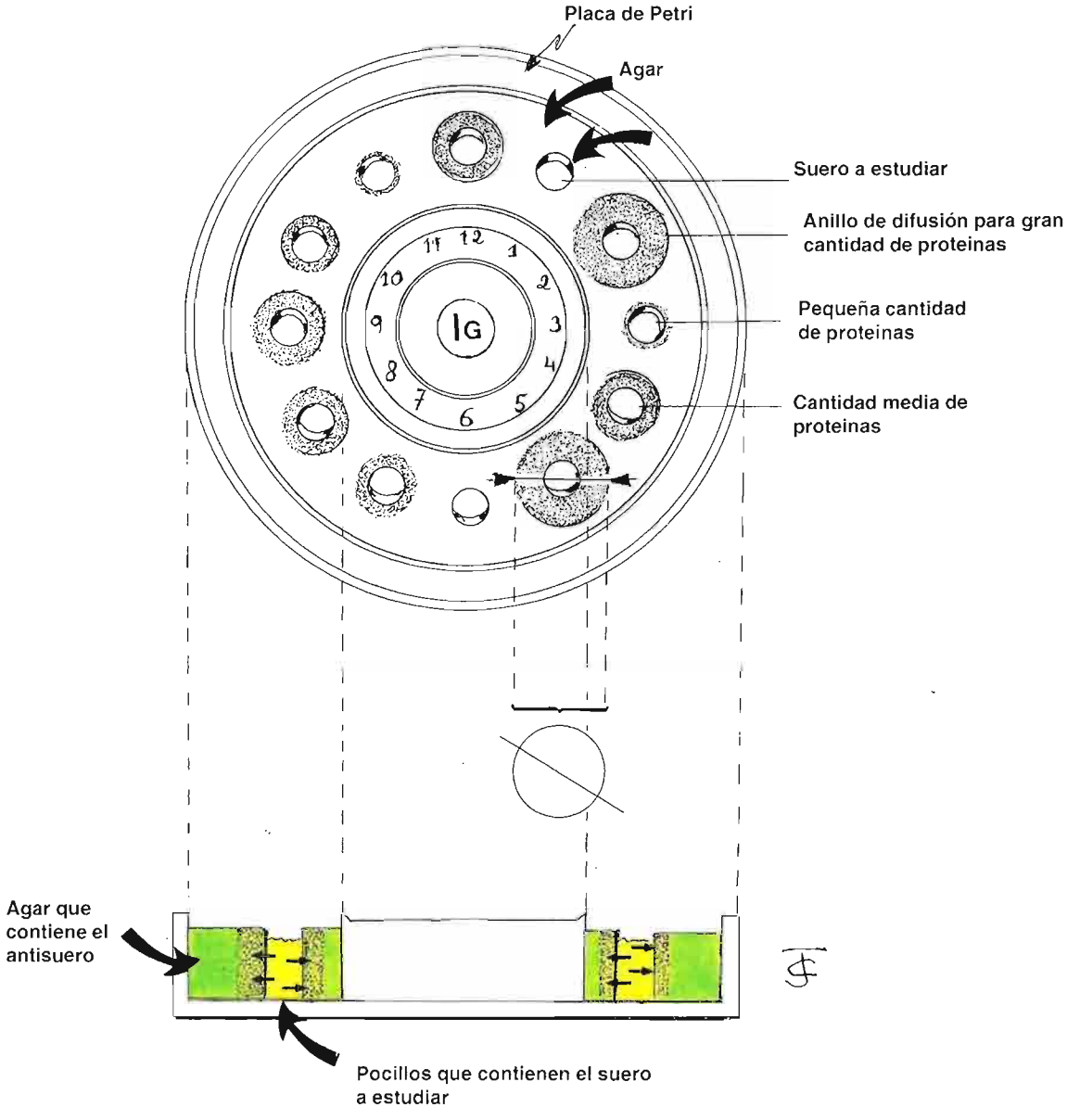



Figura 82

## 5.2. Determinación de las principales fraciones proteicas del suero por inmunodifusión radial (Mancini)

Entre estas fracciones, señalaremos como más interesantes la IgA, IgM e IgG.

La IgE e IgD, al estar presentes en una concentración muy baja, no se pueden determinar por inmunodifusión simple.

La técnica de inmunodifusión radial, llamada **técnica de Mancini**, es muy facil **(Fig. 82)**. Se dispone de placas de Petri, conteniendo agar, con un determinado número de pocillos. Se deposita sobre los pocillo el suero a estudiar. Los anticuerpos específicos se incorporan al agar. Alrededor de los pocillos aparece un anillo de difusión de diámetro proporcional a la cantidad de antígeno contenida en el pocillo. Este diámetro se compara con una escala de referencia. Existen placas o discos especiales, ya preparados, para cada fracción proteica del suero (IgA, IgM, transferrina, antitripsina, macroglobulina, etc.).

# ELECTROFORESIS

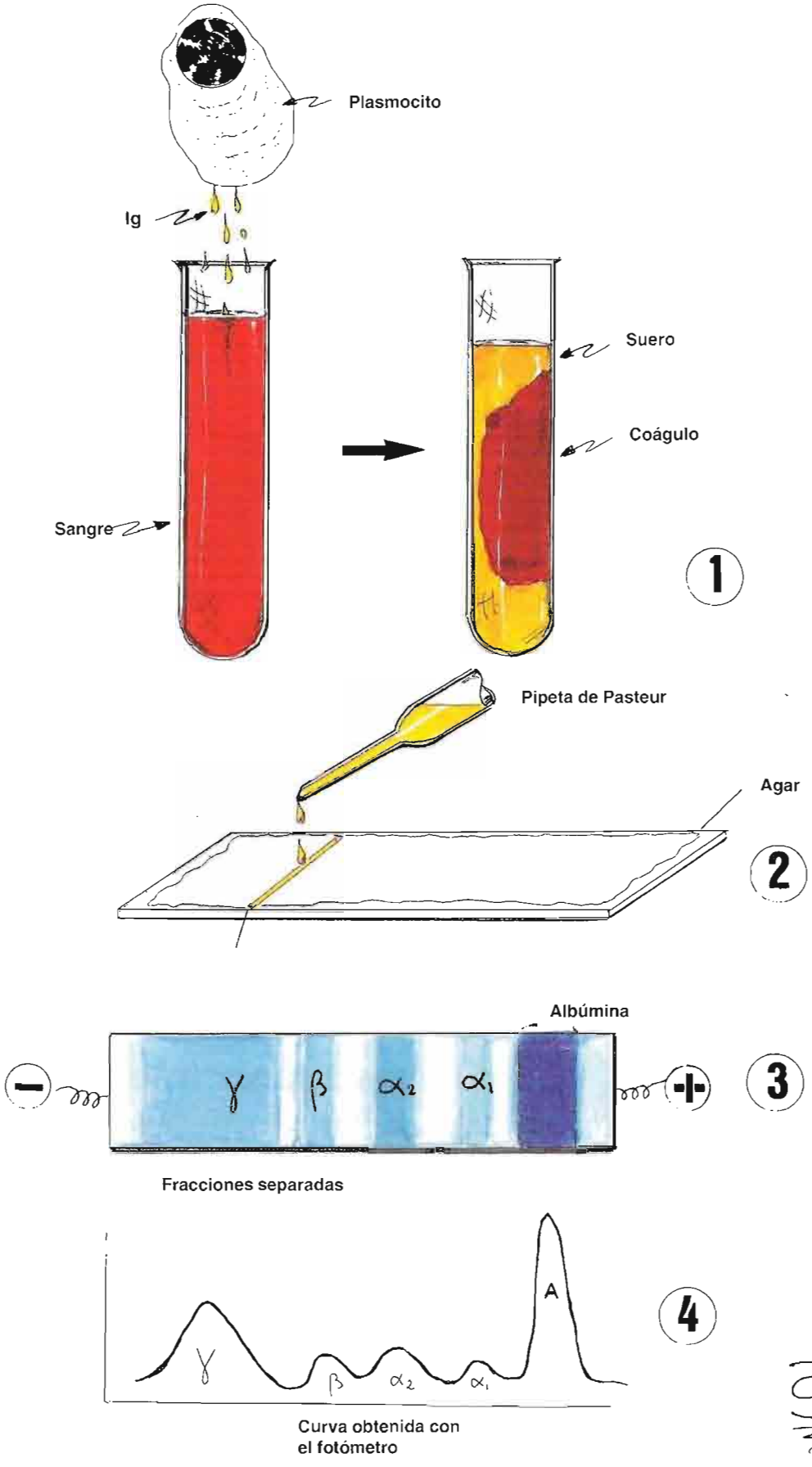
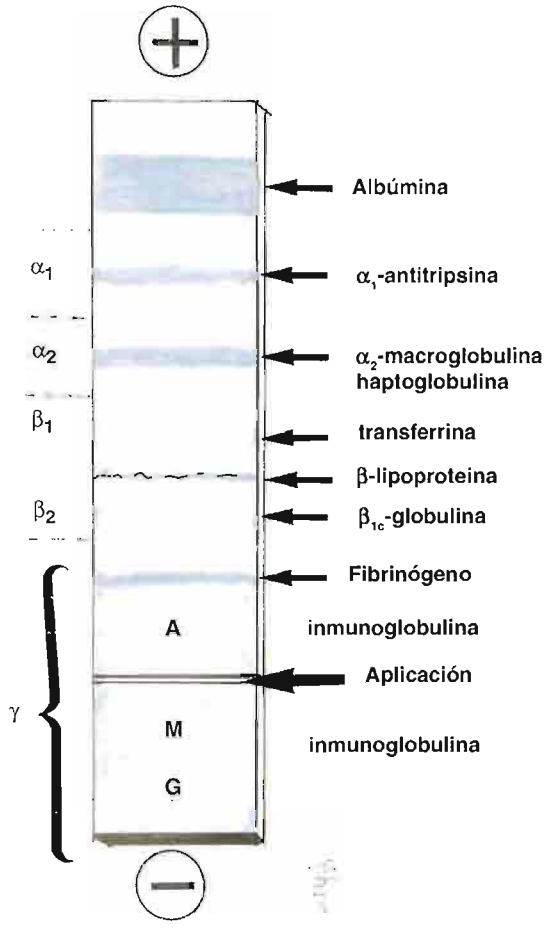



Figura 83




**ELECTROFORESIS EN DETALLE**
(agar sobre placa de cristal)

**Figura 84**

# 5.3. Electroforesis de proteinas

Si se quieren estudiar ciertas fraciones del suero, en particular las gammaglobulinas, se comienza por separar el suero del coágulo sanguineo **(Fig. 83)** ❶. Se dispone de láminas de vidrio sobre las cuales se coloca una placa de agar ❷ como para la inmunodifisión.

En un extremo, se escava un canal perpendicular destinado a recibir el suero a estudiar. Este suero es depositado con una pipeta de Pasteur ❷. A continuación, se conecta una corriente eléctrica que provoca un efecto de migración de las proteinas séricas en el medio, cada una a una velocidad determinada (en función de su carga eléctrica, de su peso, del medio, etc.). Al final de la migración, se obtiene el fraccionamiento de los diferentes componentes. Una tinción apropiada, permite identificarlos ❸.

Con un fotómetro se puede medir la densidad de cada linea de electroforesis y trazar así una curva ❹. Las diferentes lineas de precipitación se pueden ver a simple vista.

En esta electroforesis se ve que la albumina migra hacia el polo positivo, mientras que las gammaglobulinas, que son las que más nos interesan, migran hacia el polo negativo. Las gammaglobulinas, constituyen una mezcla que forma una banda de migración bastante ancha.

Los niveles de las diferentes fracciones contenidas en el suero en% son:
- albumina: 50–60%
- $\alpha_1$-globulinas: 4–7%
- $\alpha_2$-globulinas: 5–9%
- $\beta$-globulinas: 11–14%
- $\gamma$-globulinas: 15–20%

Es muy importante interpretar correctamente los resultados de laboratorio que a menudo dan como valores normales los del adulto.En el nacimiento encontramos 16% de gammaglobulinas (provenientes en su mayor parte de la madre), a los 2 meses 4–5% y al año 8%. Esto, nos da una idea de los cambios que se producen con la edad.

La electroforesis es la técnica básica que ha permitido numerosos avances, principalmente fracionamientos mucho más detallados (agar, **Fig. 84**: migración en gel de poliacrilamida, **Fig. 91**: electrofocalización) etc.

# INMUNOELECTROFORESIS

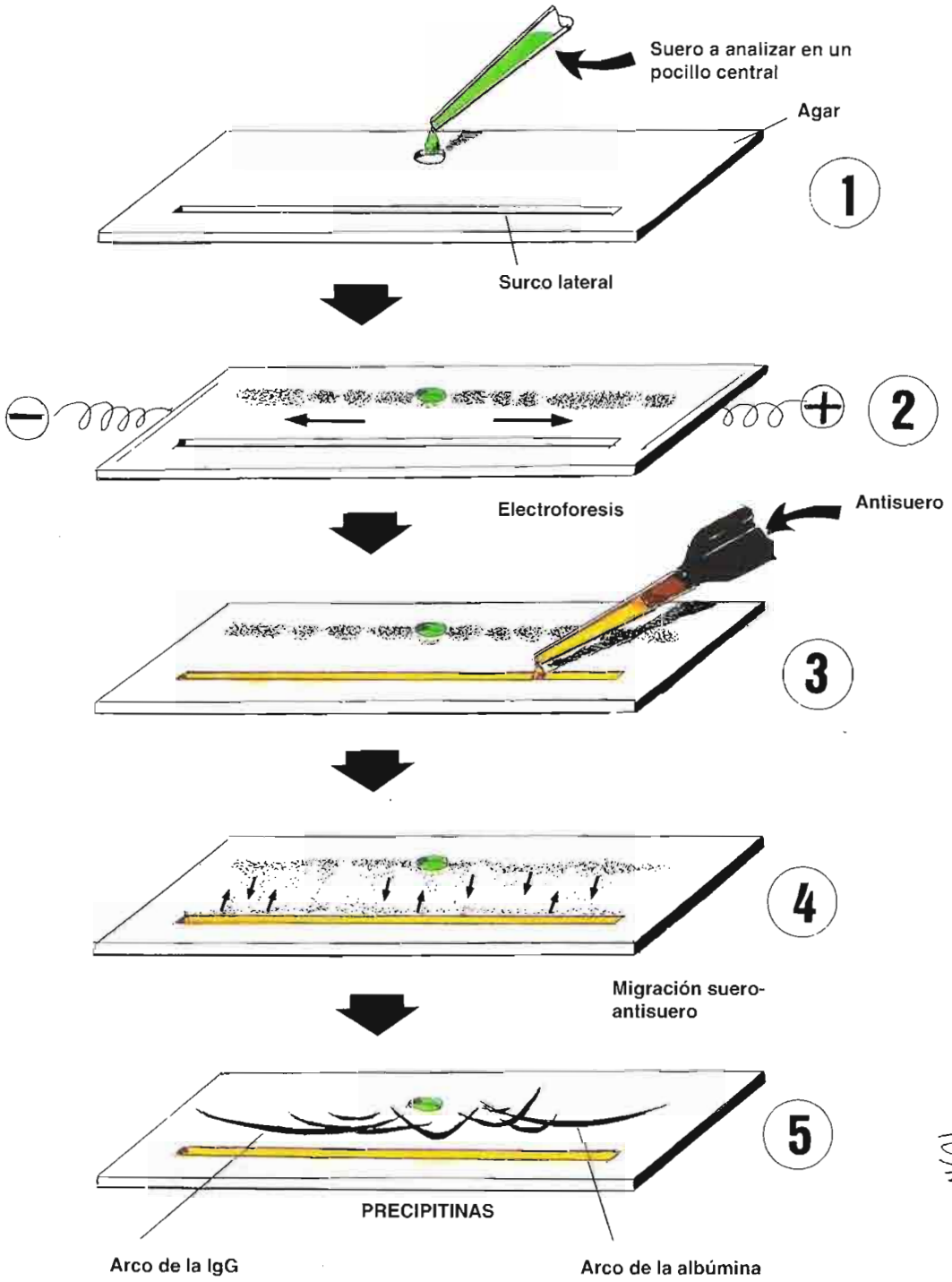



Figura 85

# 5.4. Inmunolelectroforesis

El principio de la inmunoelectroforesis consiste en combinar la electroforesis y la inmunodifusión radial.

La técnica es la siguiente **(Fig. 85)**:

❶ Se dispone de una placa de vidrio (por ejemplo un portaobjetos de microscopio). Se recubre esta con una capa de agar, sobre la cual se escavan un pocillo central y un canal lateral. En el pocillo se deposita una gota del suero a estudiar. El canal lateral se reserva para el antisuero, es decir para el anticuerpo.

❷ Se conecta una corriente eléctrica de manera que el suero depositado en el pocillo se descomponga por electroforesis.

❸ Al final de la electroforesis, el suero del paciente se encuentra descompuesto en sus principales fracciones. Estas son las que deben analizarse. Entonces, se vierte en el canal lateral el antisuero, es decir la mezcla de anticuerpos que reaccionarán con las diferentes fracciones del suero a estudiar.

❹ Se dejan difundir en el agar el suero y el antisuero.

❺ En el punto de encuetro antígeno-anticuerpo aparecen **arcos de precipitación** específicos. Cada arco corresponde a una fracción determinada del suero a estudiar. Estas precipitinas son específicas. Se lleva a cabo una tinción de la preparación para hacer posible su lectura.

Gracias a la inmunoelectroforesis se han podido poner de manifiesto en el suero humano numerosos componentes distintos. Las diferentes inmunoglobulinas que nos interesan especialmente en inmunoalergología han sido identificadas por este método.

# TESTS DE COOMBS

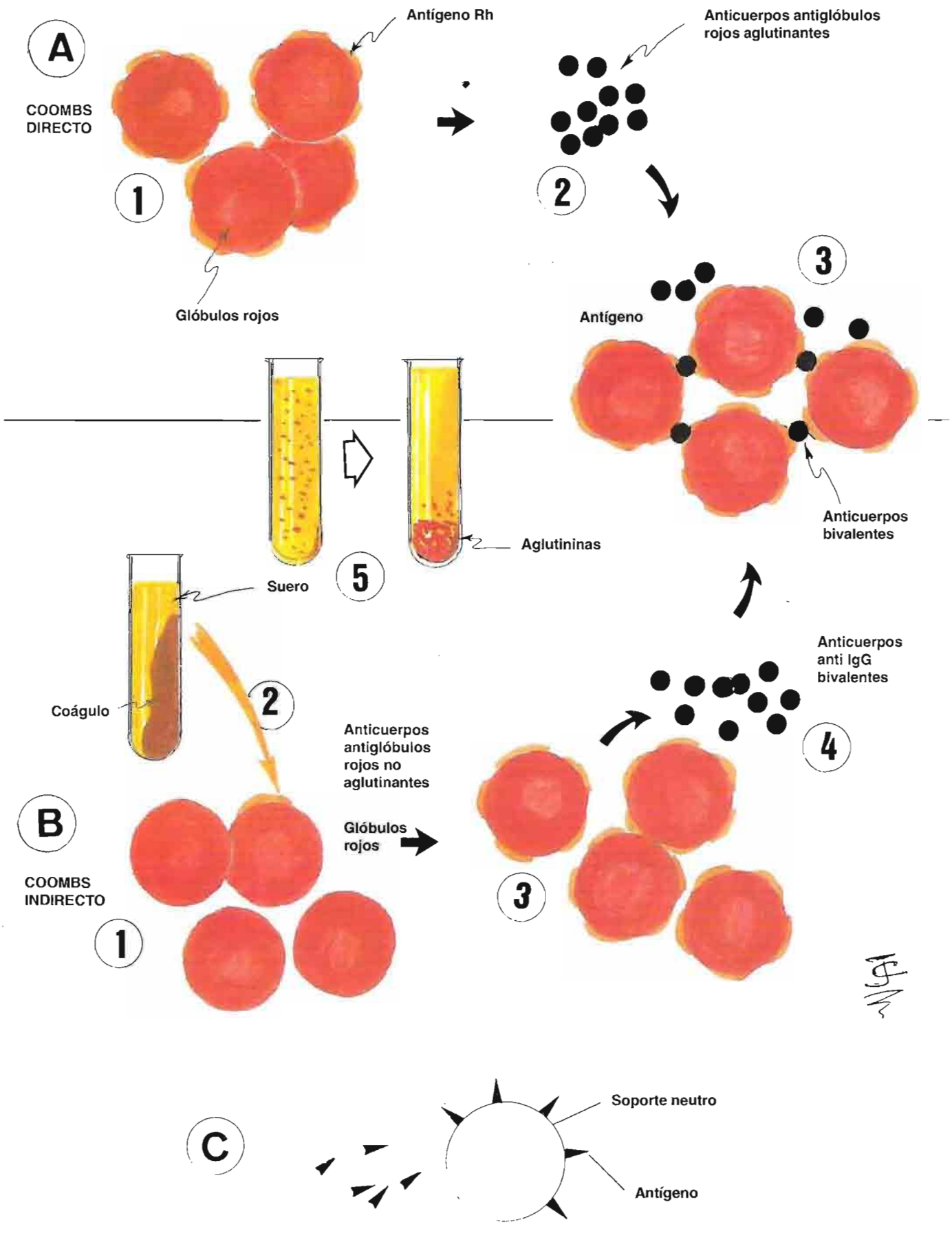



Figura 86

# 5.5. Aglutinación y hemaglutinación pasiva

La técnica de aglutinación pasiva es un método sensible de detección de anticuerpos que ha sido muy utlilizado en inmunología. Su principio consiste en fijar los anticuerpos solubles e invisibles a soportes inertes, como el látex, microcristales de colesterol, etc. También se pueden utilizar como soporte los glóbulos rojos. En este caso se habla de **"hemaglutinación".** Si el antígeno esta ligado a la membrana de una célula y forma parte de esta membrana, se llama **"antígeno de superficie"**. Para obtener un fenómeno de aglutinación hacen falta anticuerpos bivalentes. Una aplicación de la aglutinación es el **test de Coombs,** destinado a detectar una inmunización anti-Rh en un neonato aquejado de anemia hemolítica, o a detectar en una madre una posible sensibilización al antígeno Rh (el antígeno Rh es una antígeno de membrana de algunos glóbulos rojos).

**Test Coombs directo (Fig. 86 A)**. En ❶ vemos los glóbulos rojos con el antígeno Rh fijado a la superficie. En ❷ los círculos negros representan a los anticuerpos bivalentes (es decir capaces de fijar simultaneamente dos antígenos al mismo tiempo (epítopos)). En ❸, el antígeno fijado sobre los glóbulos rojos entra en contacto con el anticuerpo bivalente. Se produce un fenómeno de aglutinación al formar los anticuerpos verdaderos puentes entre los glóbulos rojos, dando lugar a una red Ac-Ag. En un tubo de ensayo el fenómeno aparece como en ❺ a la derecha, en forma de aglutinado.Los anticuerpos capaces de formar aglutinados, los más corrientes inmunoglobulinas del tipo IgM o IgG, se llamaban en otro tiempo **aglutininas**.

**Test de Coombs indirecto (Fig. 86 B).** Aquí también se utilizan glóbulos rojos ❶ pero inicialmente estos no son portadores del antígeno. Este, es extraido del suero sanguineo después de la coagulación ❷, por ejemplo en forma de anticuerpos anti-glóbulos rojos no aglutinantes que funcionan desde este momento como antígenos. En ❸ los glóbulos rojos recubiertos por el antígeno se ponen en contacto ❹ con un anticuerpo anti-IgG bivalente. Así se obtiene el mismo fenómeno que en el test de Coombs directo, es decir una aglutinación.

La **Figura 86 C** muestra un test de **aglutinación** en el cual el glóbulo rojo ha sido reemplazado por una partícula sólida neutra como el látex, el caolin, microcristales de colesterol, etc.

# EL PRINCIPIO DE LA INMUNOFLUORESCENCIA

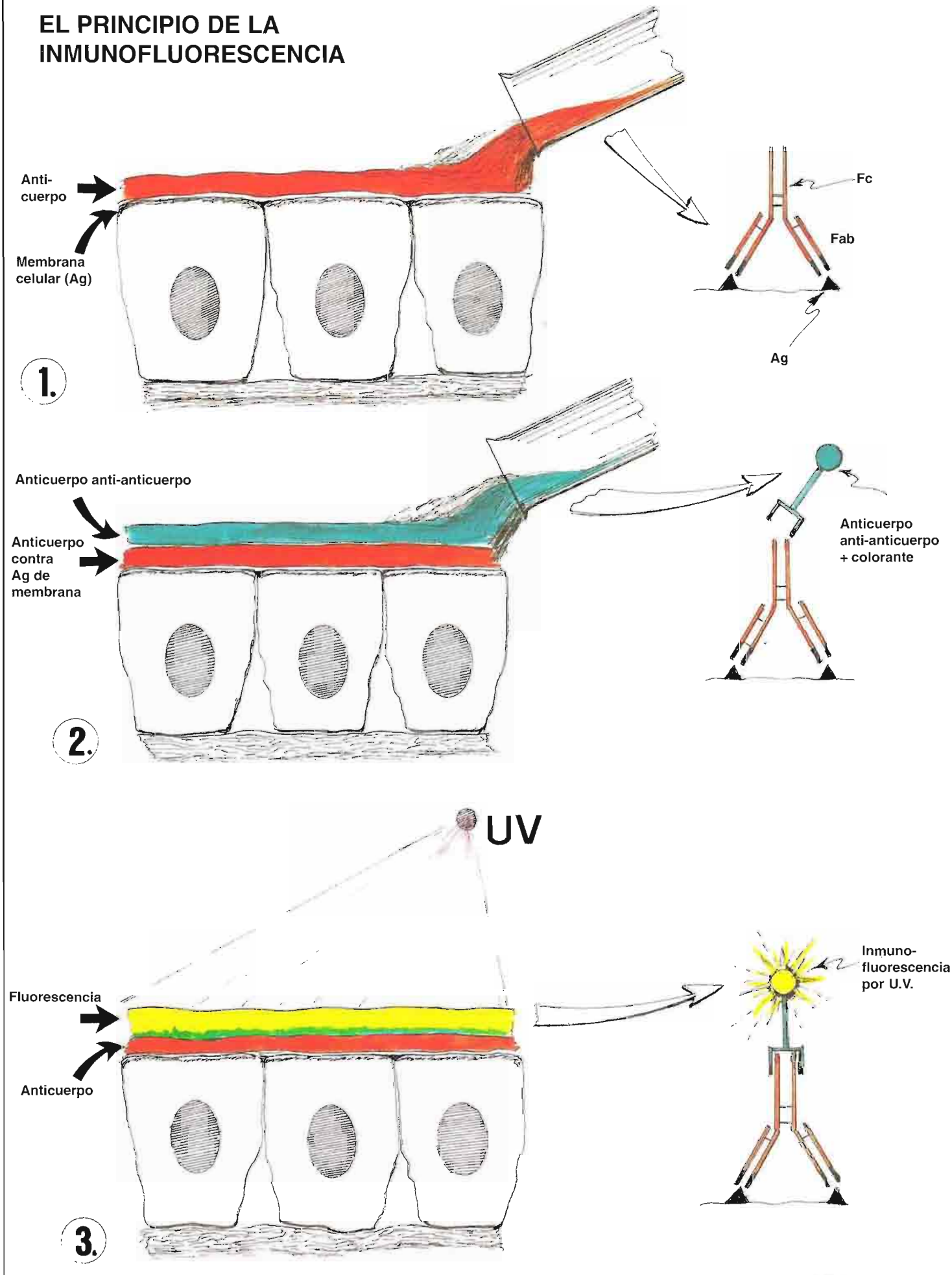
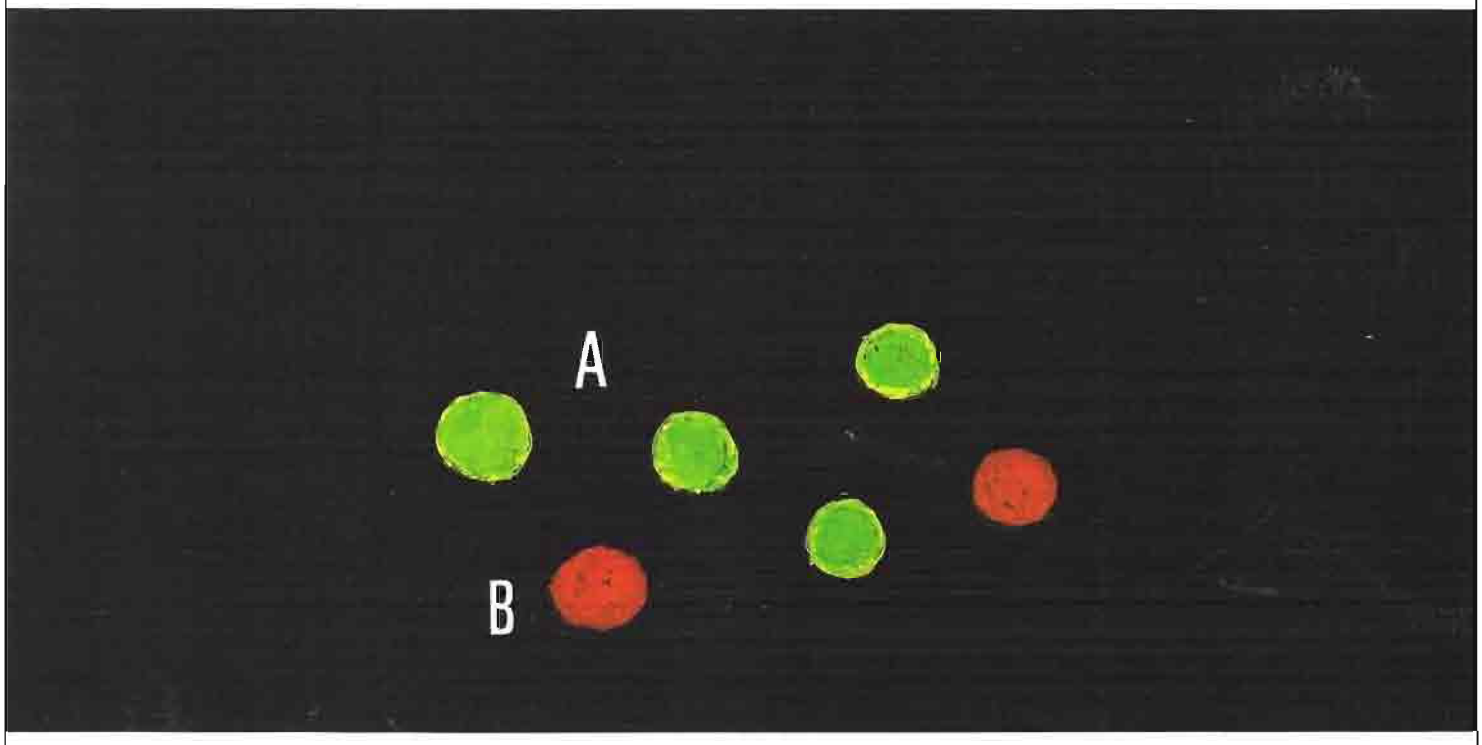



Figura 87

## LINFOCITOS MARCADOS CON COLORANTES FLUORESCENTES




Linfocitos fluorescentes por acción de los rayos U.V. vistos al microscopio sobre fondo negro
A: coloración con fluorescina
B: coloración con rodamina

**Figura 88**

# 5.6. Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia es un procedimiento que permite visualizar al microscopio los complejos antígeno – anticuerpo. Se puede así identificar y localizar un anticuerpo o un antígeno en un tejido (por ejemplo cortándolo con un criostato) o sobre una sustancia patológica, cualquiera que sea, fijada sobre una lámina. También se pueden detectar las gammaglobulinas en células en suspensión, como en los plasmocitos. Se pueden poner de manifiesto microorganismos en los tejidos, o un factor antinuclear, etc. La inmunofluorescencia permite separar células, por ejemplo en una leucemia, gracias a la técnica de citofluorometría de flujo.

Las preparaciones son examinadas al microscopio, provisto de una lámpara de luz ultravioleta, sobre un fondo negro. Los UV vuelven los colorantes fluorescentes. Estas técnicas delicadas son muy utlizadas, principalmente con anticuerpos monoclonales. En definitiva, se "ilumina" la reacción. Los colorantes más utlizados son la fluoresceina, que da un color amarillo-verdoso, y la rodamina,que da un color rojo-naranja.

La **Figura 87** muestra el principio de la inmunofluorescencia.

En ❶, se ve el anticuerpo fijado específicamente por su fracción Fab a los antígenos de la membrana celular. En ❷, se aplica sobre este anticuerpo un Ac anti-anticuerpo que se fija a la fracción Fc. En ❸, se ilumina la preparación con rayos ultravioleta. El anticuerpo anti-anticuerpo sobre el que está fijado el colorante especial se vuelve fluorescente.

La **Figura 88** presenta un ejemplo de linfocitos tratados por inmunofluorescencia.

# LOS TRES METODOS DE INMUNOFLUORESCENCIA

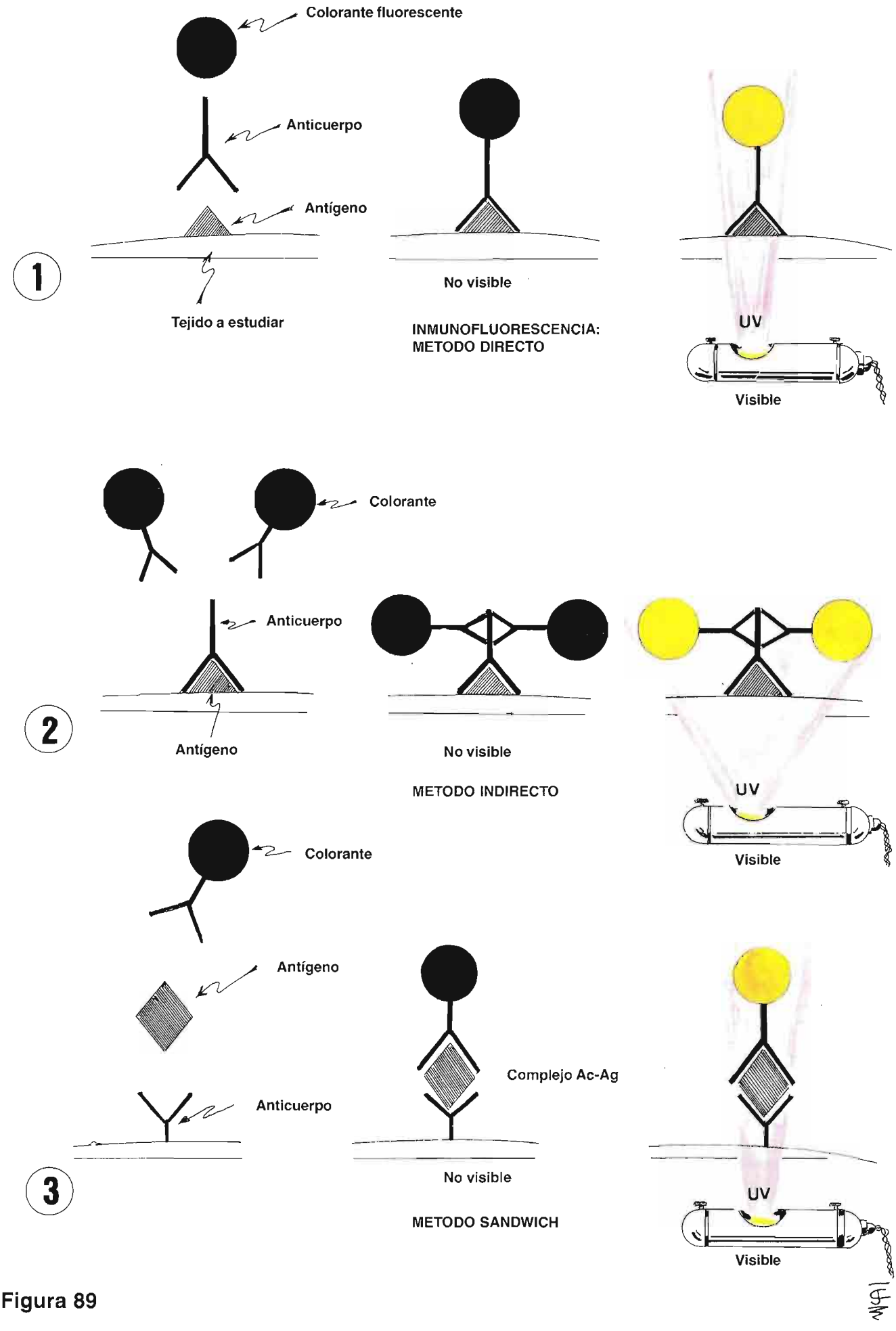



Figura 89

Se utlizan tres técnicas de inmunoflourescencia: **Figura 89**.

❶ **Técnica directa**: un anticuerpo conocido dirigido contra un antígeno a estudiar esta marcado con el colorante. El anticuerpo se aplica directamente sobre el antígeno. Esta reacción se ve en la **Figura 89 ❶**. De izquierda a derecha vemos los elementos de la reacción; la reacción se ha producido pero no es visible. La reacción es visible bajo el efecto de los rayos UV. Para visualizar esto se precisan microscopios con filtros especiales.

❷ **Técnica indirecta:** el anticuerpo no marcado se aplica directamente sobre la preparación que se supone contiene el antígeno. En una segunda fase, la reacción antígeno-anticuerpo es tratada con un suero anti-inmunoglobulina marcado con un colorante. Finalmente, se coloca la preparación en el microscopio y se ilumina con UV. La **Figura 89 ❷** muestra los principios de esta reacción. A diferencia de la técnica directa, esta técnica proporciona una fluorescencia más intensa, ya que se pueden fijar más moleculas de anti-anticuerpo coloreadas sobre el complejo antígeno – anticuerpo.

❸ **Técnica llamada de "sandwich":** este método esquematizado en la **Figura 89 ❸** permite localizar un anticuerpo celular. Se coloca una solución de antígenos no marcados sobre el anticuerpo a estudiar, de manera que se obtenga un complejo antígeno-anticuerpo. En una segunda fase, se añade un anticuerpo marcado dirigido contra el antígeno del complejo antígeno-anticuerpo. La polivalencia del antígeno permite fijar el anticuerpo celular y el anticuerpo marcado simultaneamente. La fluorescencia aparece sólo si el anticuerpo marcado es capaz de fijarse sobre el complejo antígeno-anticuerpo, es decir si el anticuerpo esta presente. Esta técnica permite sobre todo visualizar un anticuerpo específico.

# ELISA (ténica Sandwich)

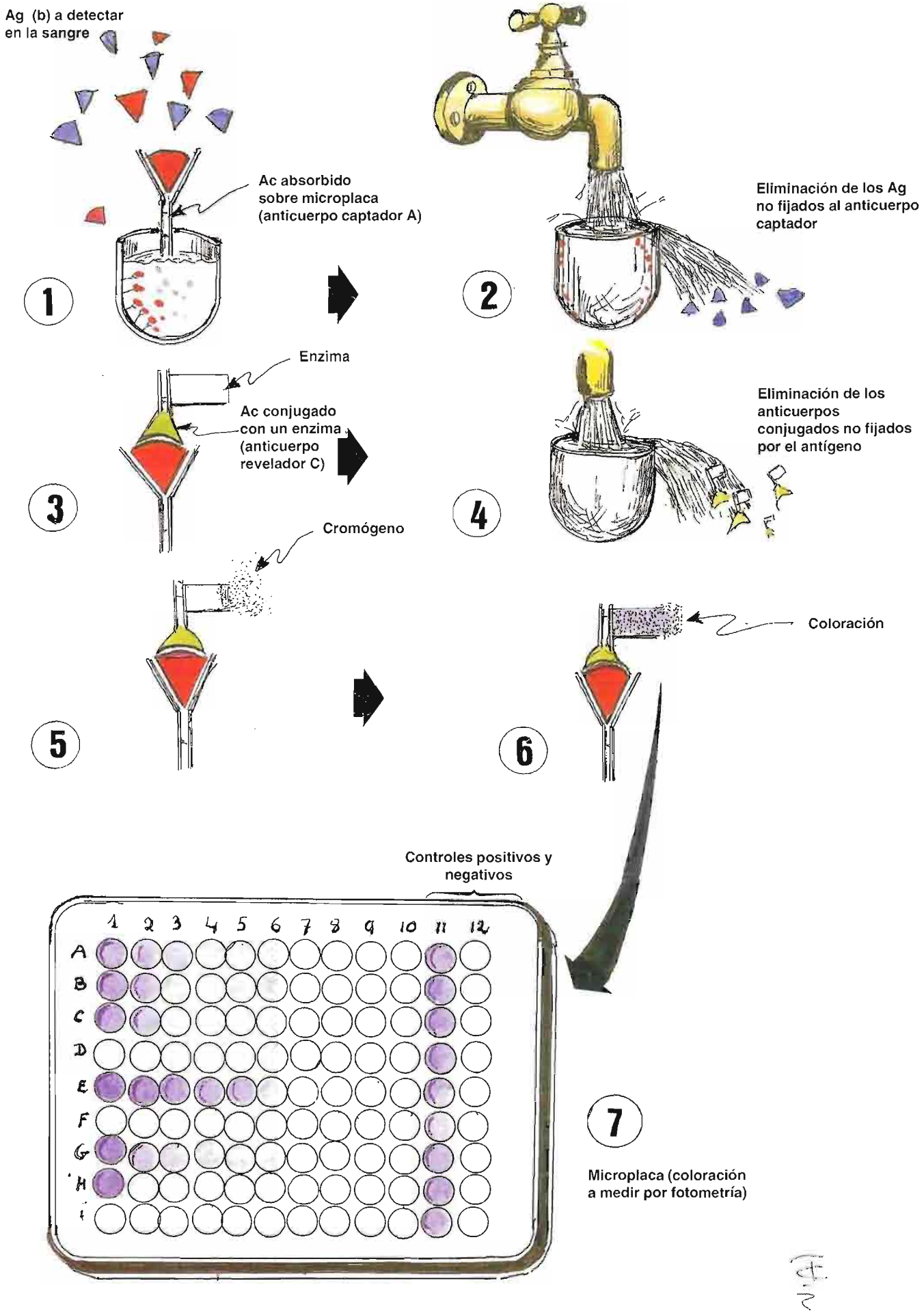



Figura 90

## 5.7. Quimioluminescencia

En principio, los anticuerpos pueden estar marcados por átomos radioactivos (RIA: Radio Immuno Assay, por ejemplo: RAST), por moléculas que se vuelven fluorescentes bajo el efecto de rayos ultravioletas (inmunofluorescencia), por enzimas que dan una reacción coloreada en presencia de un cromógeno (ELISA), o por moléculas que se vuelven luminosas por una reacción química: esta es la técnica de la **quimioluminescencia**.

Un ejemplo práctico de test inmunológico para la detección de IgE específica basado en la quimioluminescencia está ilustrado en 5.11.2. Los test basados en la quimioluminescencia tienen la ventaja de tener una gran sensiblilidad, pero precisan en general aparatos de detección complicados y costosos.

## 5.8. La técnica ELISA

**ELISA** es la abreviatura de "Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay". En lugar de utilizar como marcador un cuerpo radioactivo (como en el RAST) o una sustancia fluorescente (como en la inmunofluorescencia), nos serviremos de un enzima (por ejemplo la peroxidasa, fosfatasa alcalina, etc.) y de su substrato (sustancia específica transformada por el enzima) **(Fig. 90)**.

El substrato catalizado por el enzima reacciona con un **cromógeno** (sustancia cuyo color se modifica en función de la reacción enzima – substrato).

La técnica ELISA más común es la de **placas (Fig. 90)** ❼, en la que los pocillos de plástico son capaces de absorber las inmunoglobulinas (constituyendo una "fase sólida") ❶. La técnica ilustrada en la **Fig. 90**, es la llamada "ELISA sandwich", ya que el antígeno queda atrapado entre dos "rebanadas" de Ac. Sirve para detectar y cuantificar la presencia en un líquido biológico, en general sangre, de ciertos antígenos (por ejemplo el CEA o PSA, antígenos tumorales) o anticuerpos.

En una primera fase, el Ac "captador" **(Ac A)** es absorbido por la pared de plástico de una placa, seguido de la fijación inmunológica de los Ag a detectar ❶. Después del lavado, para eliminar las moléculas no fijadas al Ac ❷, se añade un segundo anticuerpo llamado "revelador" **(Ac C)** que se fija también al Ag previamente captado ❸. El anticuerpo "revelador" C está acoplado (conjugado) a un enzima (por ejemplo peroxidasa). Después del lavado ❹, para eliminar las moléculas de anticuerpo revelador no fijado, se añade el cromógeno, que reacciona con el enzima ❺ produciendo una reacción coloreada que en general es visible a simple vista ❻ y se mide con un fotómetro ❼.

Una variante de la técnica ELISA utiliza como fase sólida **tiras de nitrocelulosa (Figura 93)** capaces de absorber los antígenos o las inmunoglubulinas. La técnica ilustrada en al **Figura 93 B** es una técnica directa, en la que el alergeno es absorbido por la nitrocelulosa y directamente detectado por un anticuerpo conjugado con un enzima. El antígeno es aplicado sobre la nitrocelulosa en forma de banda o punto **("Immunodot")**.

Las técnicas sobre nitrocelulosa permiten una lectura visual directa sin instrumentos y se prestan sobre todo para tests de screening rápido (por ejemplo test de embarazo, infeciones por Streptococos).

El ELISA es un procedimiento muy utilizado en inmunología así como en los laboratorios médicos y farmacéuticos.

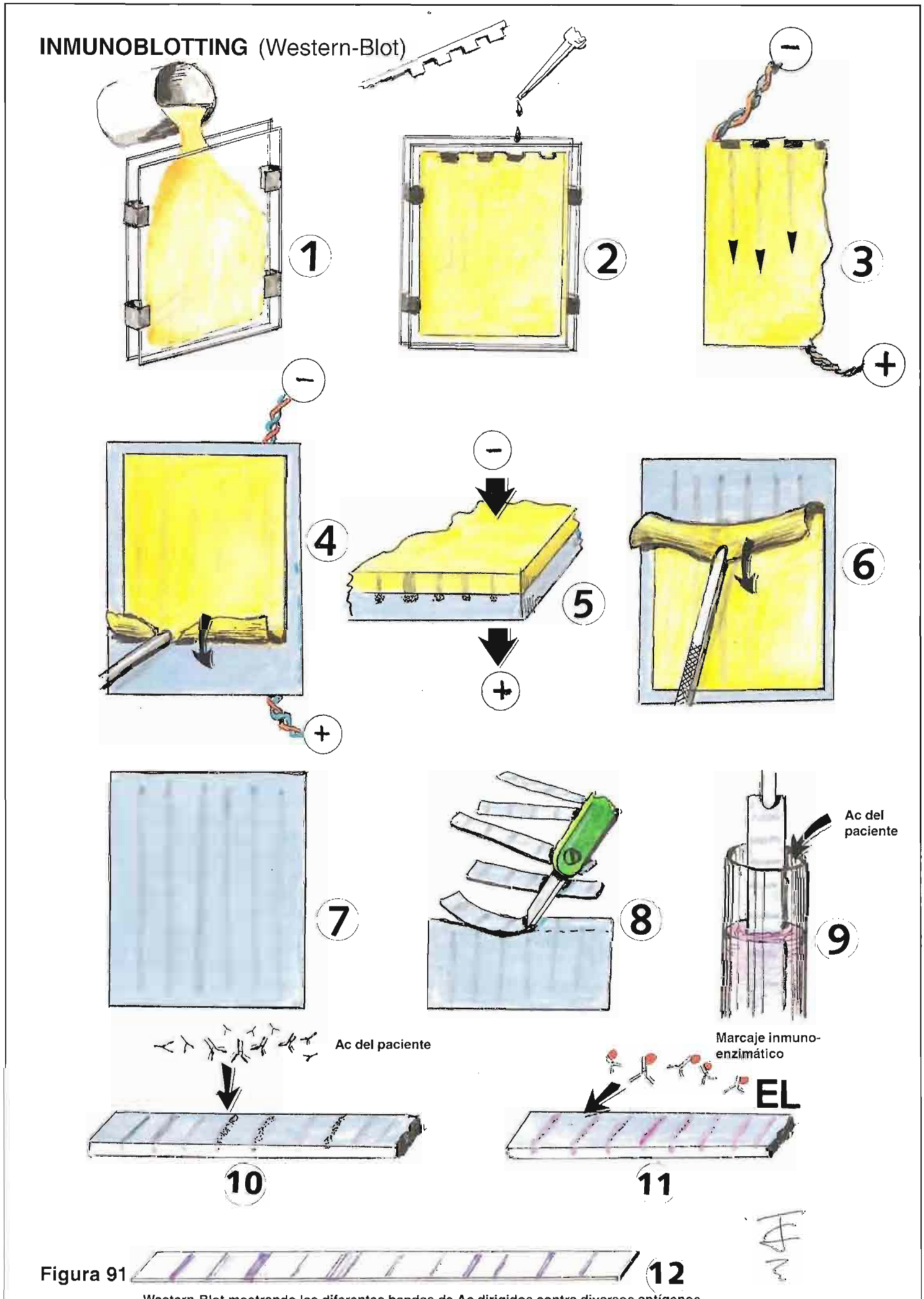



Figura 91

Western-Blot mostrando las diferentes bandas de Ac dirigidos contra diversos antígenos

# 5.9. Inmunoblotting (Western Blot)

Esta técnica muy sensible,conocida con el nombre de **"Western Blot",** es cada vez más utilizada. Sirve para la detección rápida de anticuerpos de especificidades múltiples en fase líquida o para el análisis de mezclas complejas de antígenos. Tiene numerosas aplicaciones, entre las cuales la más conocida es la confirmación del diagnóstico inmunológico del SIDA. Un ejemplo que pone de manifiesto hasta donde puede llegar la aplicación de esta técnica, es la detección de anticuerpos IgE contra los polipéptidos del látex,susceptibles de provocar reacciones anafilácticas por el simple hecho de usar guantes de caucho.

Los esquemas de la **Figura 91** muestran las principales etapas:

- ❶ Un gel de poliacrilamida es vertido entre dos placas de cristal.
- ❷ Sobre una de las superficies de la hoja del gel obtenida, se trazan surcos con una especie de "peine" y se introducen ahí los Ag correspondientes a los anticuerpos buscados.
- ❸ Los antígenos depositados difunden linealmente sobre el gel por electroforesis.
- ❹ Se coloca el gel (amarillo) con el antígeno difundido sobre una hoja de nitrocelulosa (azul).
- ❺ Se vuelve a hacer una segunda electroforesis en dirección poliacrilamida – nitrocelulosa: del amarillo al azul, como aparece en el dibujo que nos muestra un corte en aumento. El antígeno sólo migra sobre la superficie de nitrocelulosa, de ahí el nombre de **inmunoblotting**. Cuando se emplean otros tipos de gel para incorporar los Ag (por ejemplo agar) basta con una simple aposición para que los Ag separados en el gel por electroforesis sean transferidos a la nitrocelulosa por capilaridad.
- ❻ Se quita el gel de poliacrilamida.
- ❼ Nitrocelulosa con lineas de antígenos después de la electroforesis. Hay que señalar que hasta aquí estas lineas son invisibles.
- ❽ Se cortan las bandas de nitrocelulosa de manera que tengamos sobre cada una los antígenos sembrados en ❷.
- ❾ Se pone la nitrocelulosa marcada con el antígeno en contacto con el suero del paciente para identificar los anticuerpos buscados.
- ❿ Contacto anticuerpo del paciente + antígeno sobre la nitrocelulosa. Formación de inmunocomplejos en el punto de encuentro entre anticuerpo y antígeno específico.
- ❶❶ Para poner de manifiesto estos inmunocomplejos,que contienen los anticuerpos específicos (por ejemplo VIH en el SIDA), se recurre por ejemplo a la técnica ELISA (EL). Este marcaje se hace con un anticuerpo antiglobulina humana marcado con un enzima al cual se añade seguidamente un substrato coloreado.
- ❶❷ Esquema de una tira de inmunoblotting positiva.

# RAST

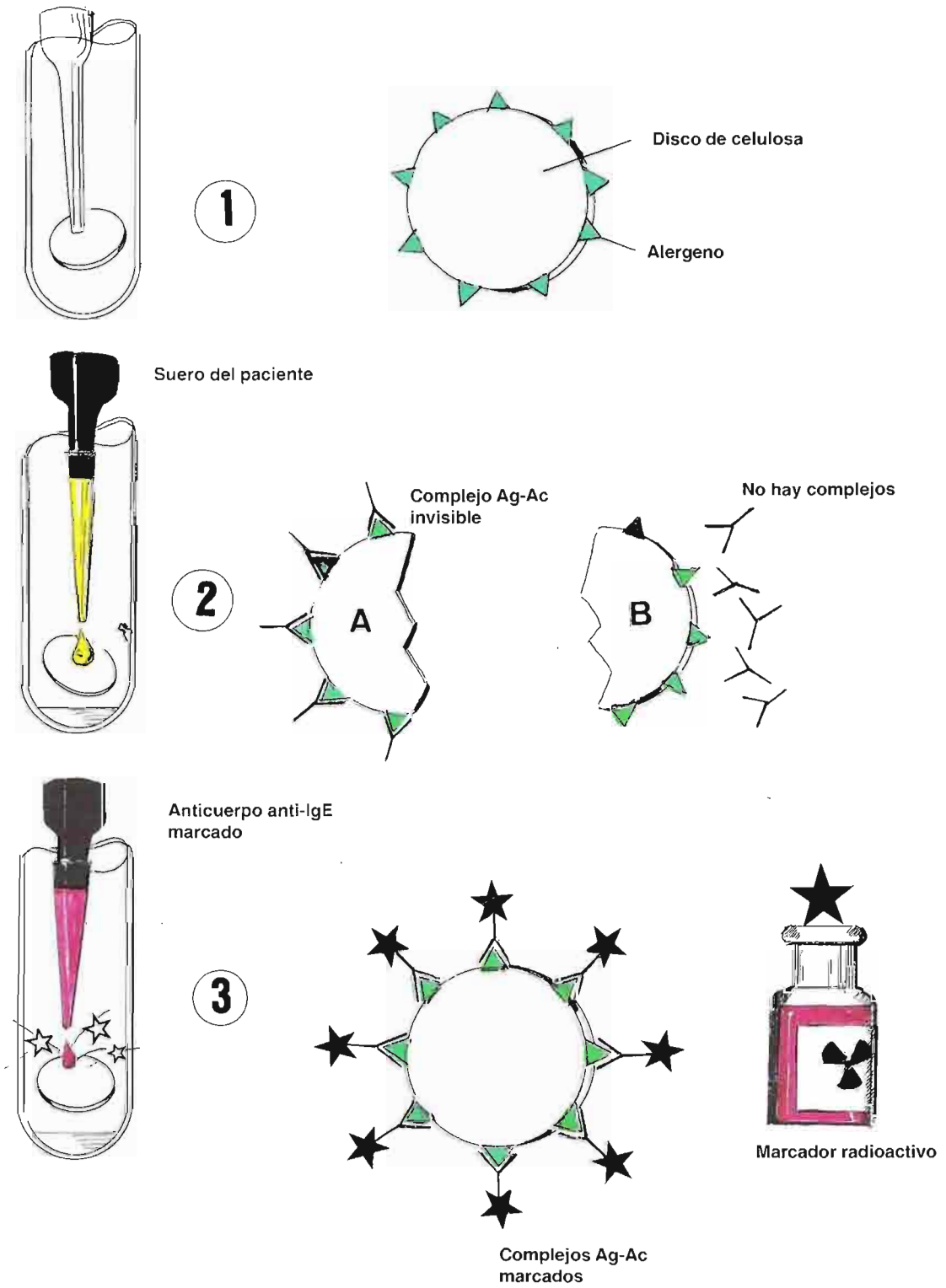



Figura 92

# 5.10. Determinación de las IgE específicas para los alergenos: RAST/CAP

**RAST** es la abreviatura de Radio-Allergo-Sorbent-Test. Esta ingeniosa técnica está muy extendida. Permite poner en evidencia los anticuerpos IgE específicos contra los principales alergenos en el suero del paciente. Hasta aquí, la detección de las IgE "in vitro" era dificil debido a su baja concentración en el suero.

El principio de la técnica es el siguiente **(Fig. 92):** ❶ muestra a gran aumento, un disco de celulosa (tamaño natural: el de un confeti) sobre el cual el fabricante ha "pegado" los alergenos. En general hay un sólo tipo de alergeno por disco pero se pueden utilizar también varios, sobre todo en los test de screening preliminares (por ejemplo "Phadiatop"). El disco es depositado en un tubo de cristal o sobre un pocillo en una placa.

Sobre este disco se coloca el suero del paciente ❷. Si este contiene anticuerpos IgE contra el alergeno correspondiente, aparece sobre la superficie del disco un complejo inmune antígeno – anticuerpo (❷ A). Si no hay anticuerpo específico en el suero del paciente, no se produce la reacción antígeno – anticuerpo (❷ B).

La fase siguiente permite poner en evidencia el complejo antígeno – anticuerpo que no es visible a simple vista. Para esto, se "marca" este, usando un anticuerpo anti IgE dirigido contra el anticuerpo fijado al complejo. En ❸, se representa este en forma de estrella. Es radioactivo, es decir emite rayos que pueden ser captados por un aparato llamado espectómetro. En las versiones más recientes los anticuerpos anti IgE pueden estar también marcados por un enzima, como en la técnica ELISA. Los resultados se expresan en "clases", clasificación muy adecuada para la práctica.

- Clase 0: ausencia de radioactividad, es decir el paciente no tiene IgE específicas.
- Clase 1 y 2: son resultados bastante bajos que sólo deben tomarse en cuenta para el diagnóstico en un cierto contexto clínico.
- La clase 3: refleja niveles de IgE específicas moderados y la clase 4 revela niveles notablemente elvados.

Actualmente se usa también una nueva clasificación más precisa en **PRU** (Pharmacia RAST Units) que corresponde:

- Clase 0 = < 0,35 PRU/ml
- Clase 1 = 0,35–0,7 PRU/ml
- Clase 2 = 0,7–3,5 PRU/ml
- Clase 3 = 3,5–17,5 PRU/ml
- Clase 4 = > 17,5 PRU/ml

En la práctica, hay que tener en cuenta sobre todo las clases 3 y 4.

Si bien el RAST es una técnica extraordinaria, es preferible comenzar por los test cutaneos o por un test serológico de screening. El RAST puede suplantar a los test cutaneos en el caso de que estos sean dificilmente practicables, por ejemplo en niños de corta edad, en casos de eczema generalizado o de dermatografismo intenso. También pueden usarse en ciertos casos en los que los test alergológicos sean arriesgados,como por ejemplo en la alergia al pescado o a los himenópteros. Al contrario que los test cutaneos, el RAST no se altera por los antihistamínicos. Hay que señalar que el RAST no se vuelve positivo en la práctica hasta la edad de 2–3 años. En bebés se puede realizar fundamentalmente para microscreening.

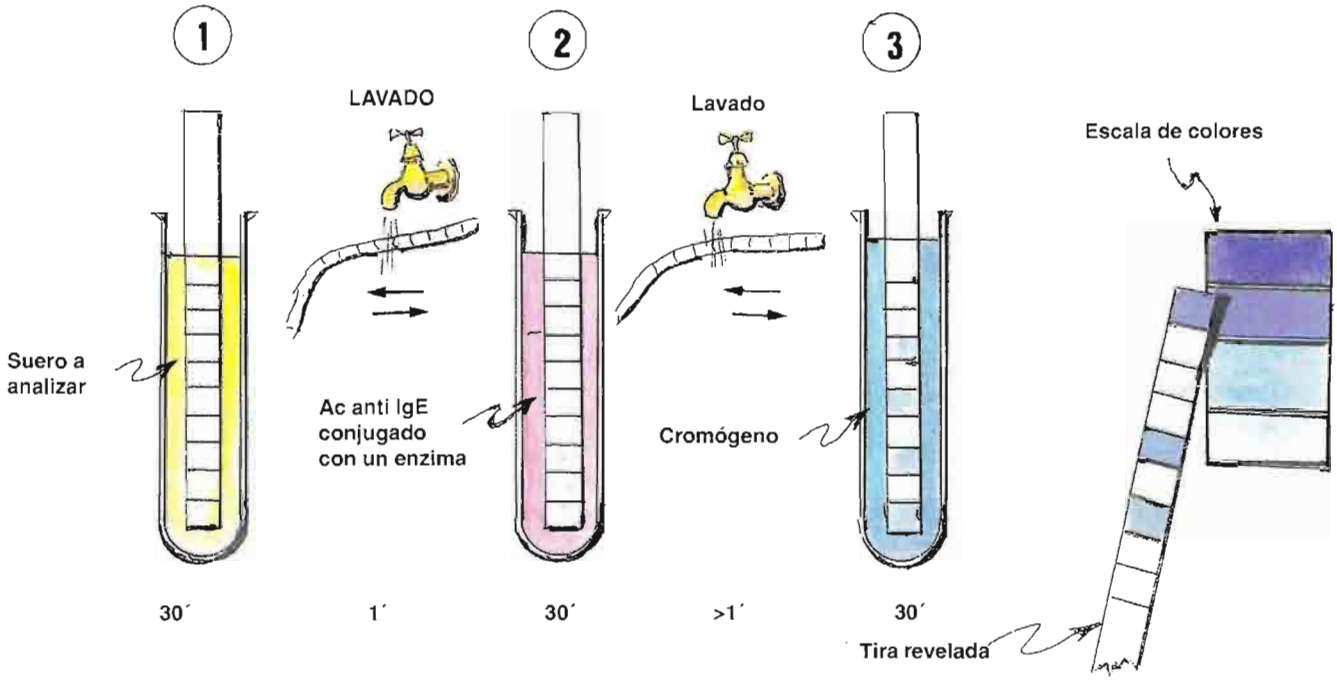
Los test cutaneos y el RAST se complementan bastante bien. El RAST no mide más que las IgE específicas en suero, mientras que los test cutaneos miden la reactividad del mastocito (ver test cutaneos) El RAST puede ser positivo contra uno u otro alergeno mientras que el nivel de IgE total es normal.

En la práctica, los principales RAST a usar son: ácaros Dermatophagoides pteronyssinus y/o farinae, pólenes de gramineas, pelos de gato, pelos de perro, pólenes de compuestas y de árboles (según la región). El RAST es también bastante útil en las alergias a la clara del huevo y a la lactoalbúmina. Por el contrario, los RAST contra la mayor parte de los hongos y alimentos son en general poco fiables. En cuanto al RAST contra el polvo de casa, no es de ninguna utilidad y debería ser ovidado. De hecho contiene una mezcla de numeroso alergenos diferentes y un resultado positivo no identifica al alergeno causal. Para el RAST a las gramineas, basta en general con usar una sóla graminea (por ejemplo el Dactilo) debido a las reacciones cruzadas entre las diferentes especies de gramineas.

Recientemente se ha aportado una mejora técnica del RAST. Consiste en reemplazar el disco portador del Ag por una microesponja capaz de fijar una cantidad mucho mayor de Ag. Es el **CAP-test**. El principio es el mismo que el del RAST usando anticuerpos anti IgE marcados enzimáticamente. El test tiene sin embargo, una sensibilidad mayor y los resultados se expresan en 6 clases de PRU. En los últimos años han aparecido diferentes técnicas para la detección de IgE específicas, basadas en principios inmunológicos similares o con ligeras modificaciones: detección de alergenos en fase líquida ALASTAT, por quimioluminescencia MAGIC-LITE, etc.

# IDENTIFICACION DE IgE ESPECIFICA – TECNICAS DE TIRAS

## A. TIRAS DE PAPEL (Test Quidel)




## B. TIRAS DE NITROCELULOSA (Immunodot GMG Test)

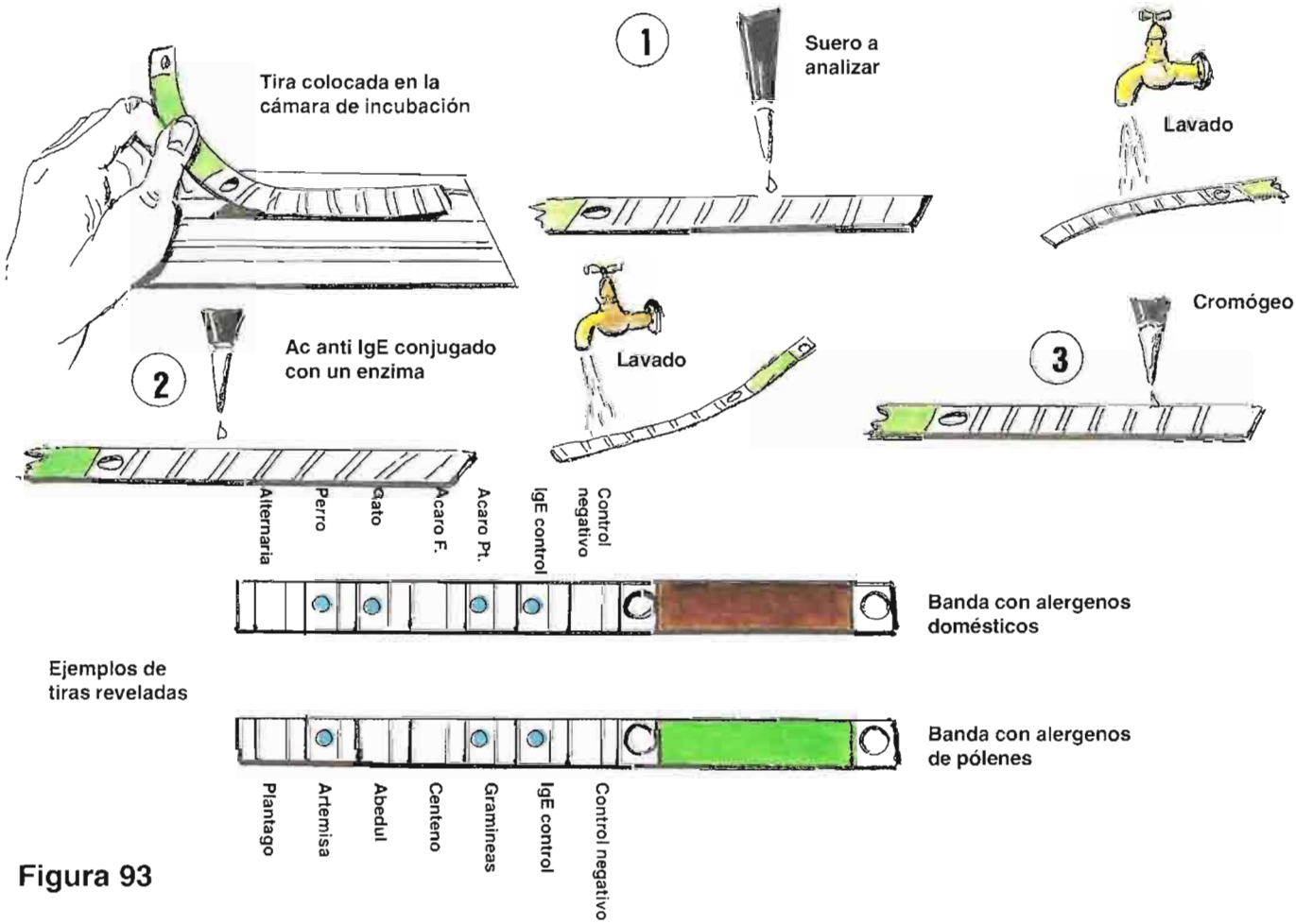



Figura 93

# 5.1. Otros métodos de determinación de las IgE

## 5.11.1. Técnicas de "tiras"

Con el fín de facilitar el diagnóstico alergológico a los médicos que no son alergólogos, que por lo general están poco familiarizados con el procedimiento fastidioso de los test cutaneos, han aparecido en los últimos años técnicas simples practicables en la consulta o en un laboratorio simple, sin necesidad de invertir en aparatos costosos como el RAST o el CAP.

Estas técnicas utilizan tiras de papel **(Fig. 93, A)** o de nitrocelulosa **(Fig. 93, B)** sobre las que han sido depositados los extractos alergénicos en forma de banda o punto. Después de la incubación de la tira con el suero del paciente que contiene las IgE específicas para uno u otro alergeno, los anticuerpos IgE que se fijan a la tira son revelados por un anticuerpo anti-IgE ligado a un enzima, como en la técnica de ELISA. Una reacción coloreada producida por el enzima con el cromógeno apropiado permite ver la reacción a simple vista y estimar su intensidad así como su positividad en clases como en las técnicas más complicadas.

Así pues es posible descubrir, con una sóla maniobra, los alergenos principales contra los que un paciente puede estar sensiblizado.

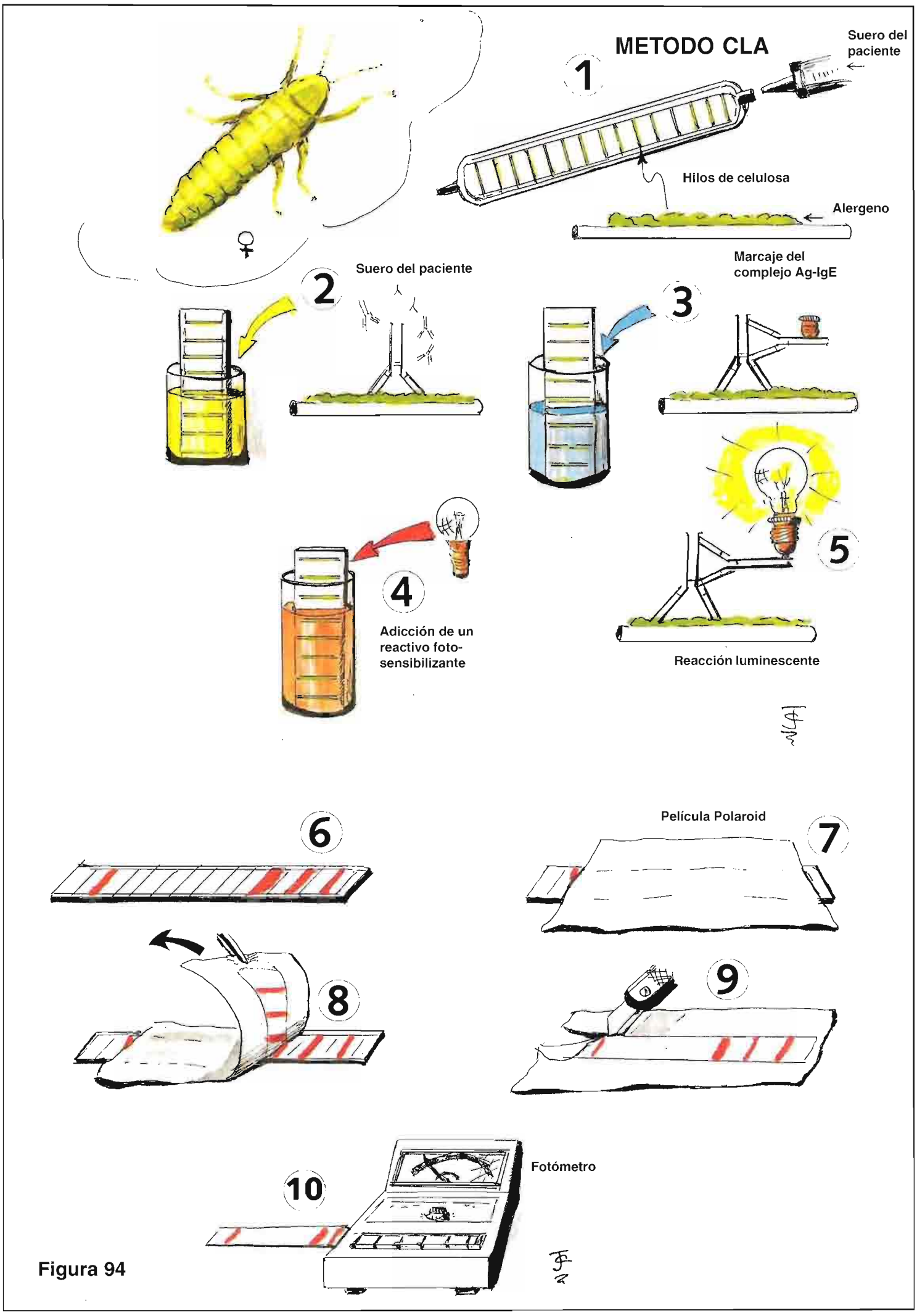

METODO CLA
1
Suero del paciente
Hilos de celulosa
Alergeno
2
Suero del paciente
3
Marcaje del complejo Ag-IgE
4
Adicción de un reactivo foto-sensibilizante
5
Reacción luminescente
6
Película Polaroid
7
8
9
10
Fotómetro

Figura 94

### 5.11.2. Metodo "CLA" (Chemoluminescent Assay)

El principio de este método se aproxima al RAST o al ELISA, con la diferencia de que el marcaje de la reacción Ag-IgE está asegurado no por un cuerpo radioactivo o una reacción colorimétrica, si no por una reacción enzimática revelada por **bioluminescencia**. Nos sirve para el diagnóstico de las alergias mediadas por la IgE.

La bioluminescencia es un fenómeno conocido en algunas bacterias, moluscos y sobre todo en la luciernaga (gusano de luz – Lampyris noctiluca). La luciferina presente en este insecto se vuelve luminescente gracias a un enzima llamado **luciferasa**. Este fenómeno de bioluminescencia es utilizado es diversos análisis sobre todo para la determinación del ATP.

La **Figura 94** resume la técnica del "CLA".

Arriba, a la izquierda: una hembra de luciernaga (es la que produce una luminescencia más fuerte, según parece para atraer al macho . . .).

- ❶ 36 hilos de celulosa colocados perpendicularmente en una pipeta de incubación. Cada hilo es potador de un alergeno. En verde, el alergeno (por ejemplo un polen de graminea) sobre el hilo.
- ❷ El suero de un paciente que contiene supuestamente IgE anti-pólen es introducido en la pipeta. La IgE específica se combina con el antígeno depositado sobre los hilos de celulosa.
- ❸ Se añade una IgG anti-IgE marcada con un enzima (simbolizada por el casquillo de una bombilla). Hasta aquí, el fenómeno es visible a simple vista.
- ❹ Se añade un reactivo fotosensibilizante que ilumina.
- ❺ El complejo antigeno – IgE (anticuerpo – anti-IgE está simbolizado por una bombilla iluminada).
- ❻ Dado que esta luminescencia es muy débil no se puede ver a simple vista, así que se coloca encima un papel fotográfico polaroid ❼ papel que se retira después de un tiempo de exposición ❽.
- ❾ Se corta la tira fotográfica y se lee en un fotómetro que traduce la positividad y la intesidad de la luminescencia.

# ROSETAS

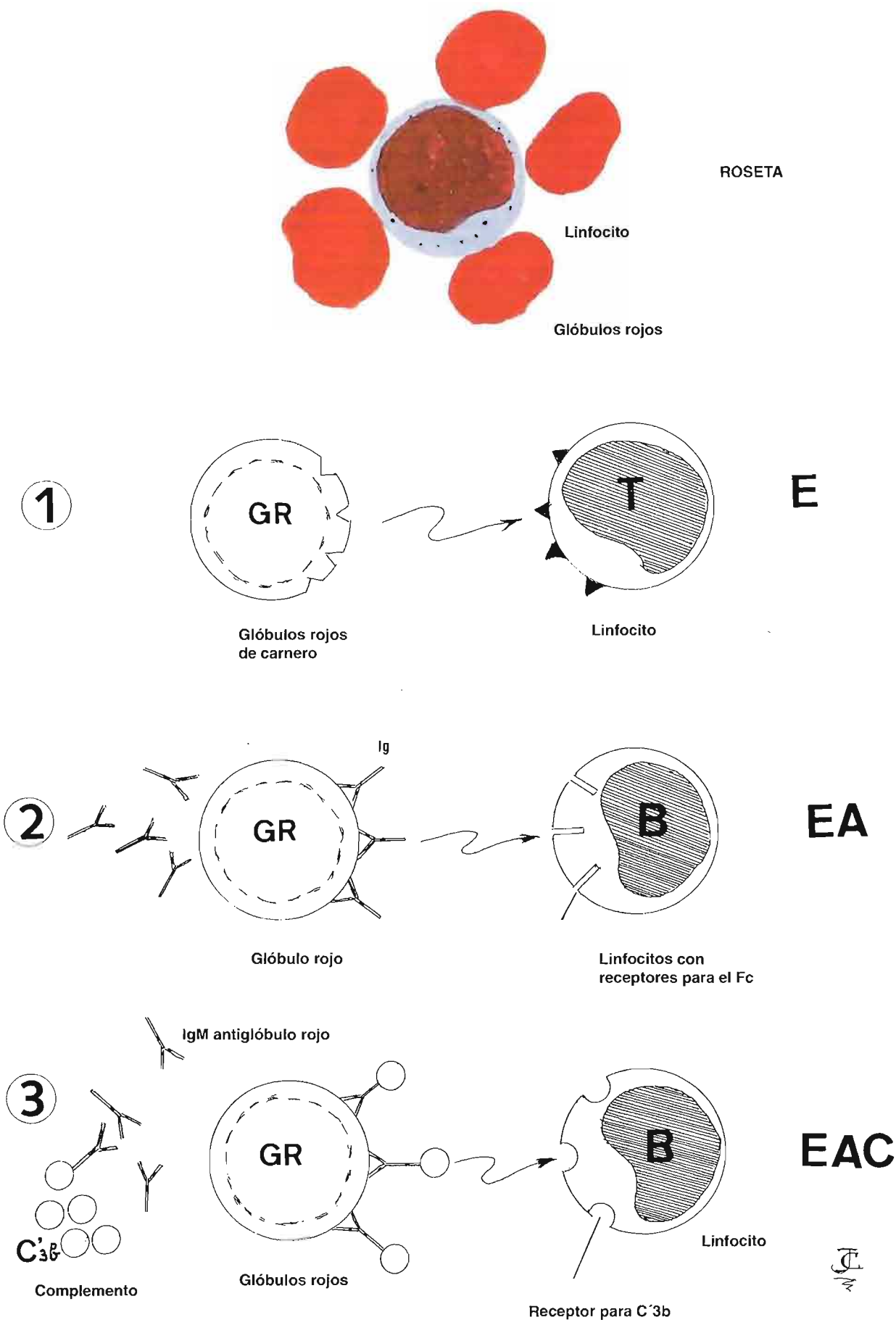



Figura 95

# 5.12. Test de rosetas

El test de rosetas fue el primero que permitío distinguir y separar diferentes subpoblaciones linfocitarias.

La imagen microscópica clásica de una"roseta" está constituida por un linfocito u otra célula sobre la membrana de la cual se adhieren glóbulos rojos, 4 ó 5 como mínimo, formando una imagen en "pétalos de rosa".

Hay diferentes tipos de rosetas. En la **Figura 95** están ilustradas las principales:

- ❶ Los linfocitos T humanos tienen en su superficie receptores específicos para los glóbulos rojos (llamados también eritrocitos o hematíes) de carnero. Al poner en contacto los linfocitos con los glóbulos rojos, se forma una roseta llamada **roseta E** (**E** de eritrocitos).
- ❷ Los linfocitos B y los macrófagos (así como las células K y algunos linfocitos T) tienen en su superficie receptores para las fracciones Fc de las IgG. Si se ponen estas células en contacto con los glóbulos rojos incubados con IgG antiglóbulos rojos se obtienen **rosetas llamadas EA** (**E** de eritrocios y **A** de anticuerpos) o **rosetas Fc**.
- ❸ Linfocitos B, monocitos y polimorfonucleares tienen también receptores para ciertos factores del complemento, especialmente para el C3b. Los glóbulos rojos incubados con IgM antiglóbulos rojos y complemento pueden en su presencia formar rosetas. Estas son las **rosetas EAC** (**E** de eritrocitos, **A** de anticuerpos y **C** de complemento).

Los glóbulos rojos pueden también servir de soporte: si los linfocitos poseen sobre su membrana estructuras específicas contra un antígeno, fijan los glóbulos rojos revestidos por este antígeno. El antígeno ha sido previamente "pegado" artificialmente sobre el glóbulo rojo.

**Roseta reumatoide**. El factor reumatoide es un autoanticuerpo de la clase IgM dirigido contra las IgG del paciente (fracción Fc). Si el linfocito que porta en su superficie está IgM se pone en contacto con glóbulos rojos incubados con IgG antihumanas se forman rosetas (70% de los pacientes aquejados de artritis reumatoide son portadores de factores reumatoides).

Hay que añadir que la técnica de rosetas es delicada y esta sujeta a errores. Ha sido prácticamente reemplazada para efectos analíticos, por la citometría de flujo (ver 5.14.). La técnica de rosetas puede utilizarse sin embargo para separar subpoblaciones linfocitarias por inmunoabsorción mediante anticuerpos adheridos a una fase sólida o a bolas magnéticas (técnicas llamadas de "panning").

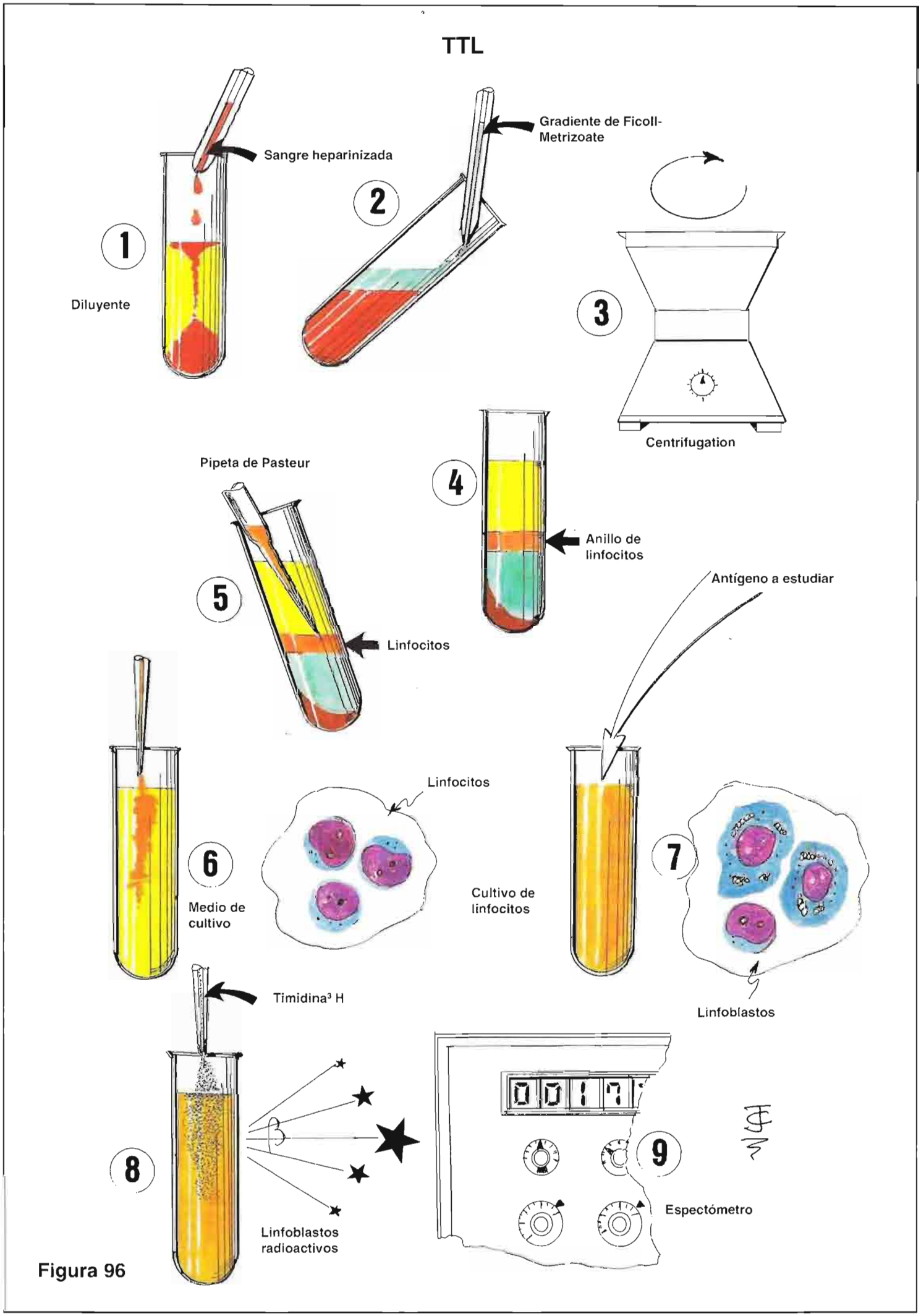

TTL
1
Sangre heparinizada
Diluyente
2
Gradiente de Ficoll-Metrizoate
3
Centrifugation
4
Anillo de linfocitos
5
Pipeta de Pasteur
Linfocitos
6
Medio de cultivo
Linfocitos
Cultivo de linfocitos
Antígeno a estudiar
7
Linfoblastos
8
Timidina³ H
Linfoblastos radioactivos
9
Espectómetro

Figura 96

# 5.13. Test de transformación linfoblástica (TTL)

Este método consiste en poner "in vitro" los linfocitos en contacto con un antígeno contra el cual pudieran estar sensibilizados. Si la reacción es positiva el linfocito se transforma en **linfoblasto**, célula facilmente reconocible al microscopio.

La técnica esta esquematizada en la **Figura 96:**

- En ❶, se pone la sangre heparinizada en un diluyente, por ejemplo suero fisiológico.
- En ❷, se añade un medio especial aglutinante de glóbulos rojos y una sustancia de densidad alta (Ficoll) a esta sangre diluida. Esta mezcla se centrifuga ❸.
- En ❹, se ven los diferentes estratos obtenidos por la centrifugación. En amarillo el diluyente, en naranja los linfocitos, en verde el Ficoll y en rojo oscuro los glóbulos rojos y polimorfonucleares.
- En ❺, se aspiran con una pipeta Pasteur los linfocitos y se depositan en ❻ un medio de cultivo especial.
- En ❼, se añade el antígeno sospechoso o una sustancia mitógena que provoque la misma reacción pero de forma no específica: la **fitohematoglutinina** (PHA). Se incuba de 3 a 7 días a 37°C. Bajo el efecto del antígeno específico o de la PHA, los linfocitos se transforman en linfoblastos ❼.

Los linfocitos se pueden contar al microscopio. Esta técnica es engorrosa y dificil y ha sido prácticamente abandonada. En la actualidad se añade timidina radioactiva ❽, que es captada **sólo por los linfoblastos**. El ADN de los linfoblastos se vuelve así radioactivo. Esta radioactividad puede medirse ❾ con un espectómetro. A más linfoblastos más radioactividad. Así no queda más que hacer un cálculo.

La técnica de TTL se utiliza sobre todo en investigación para determinar la inmunocompetencia y más raramente en la práctica alergológica (en ocasiones para intentar descubrir una alergia medicamentosa).

La estimulación linfocitaria causada por un antígeno o por un mitógeno puede manifestarse más precozmente que la proliferación linfoblástica en cultivos, que exige un mínimo de tres días. Al cabo de 24–48 horas es posible determinar sobre la membrana de los linfocitos estimulados la aparición de ciertos receptores (por ejemplo receptores de interleuquina 2: IL2R) Estos pueden ser detectados al microscopio por inmunofluorescencia o por un FACS. En el medio de cultivo de los linfocitos estimulados aparecen así mismo linfoquinas (por ejemplo IL-2, interferón $\gamma$) que se pueden detectar por la técnica ELISA.

# FACS

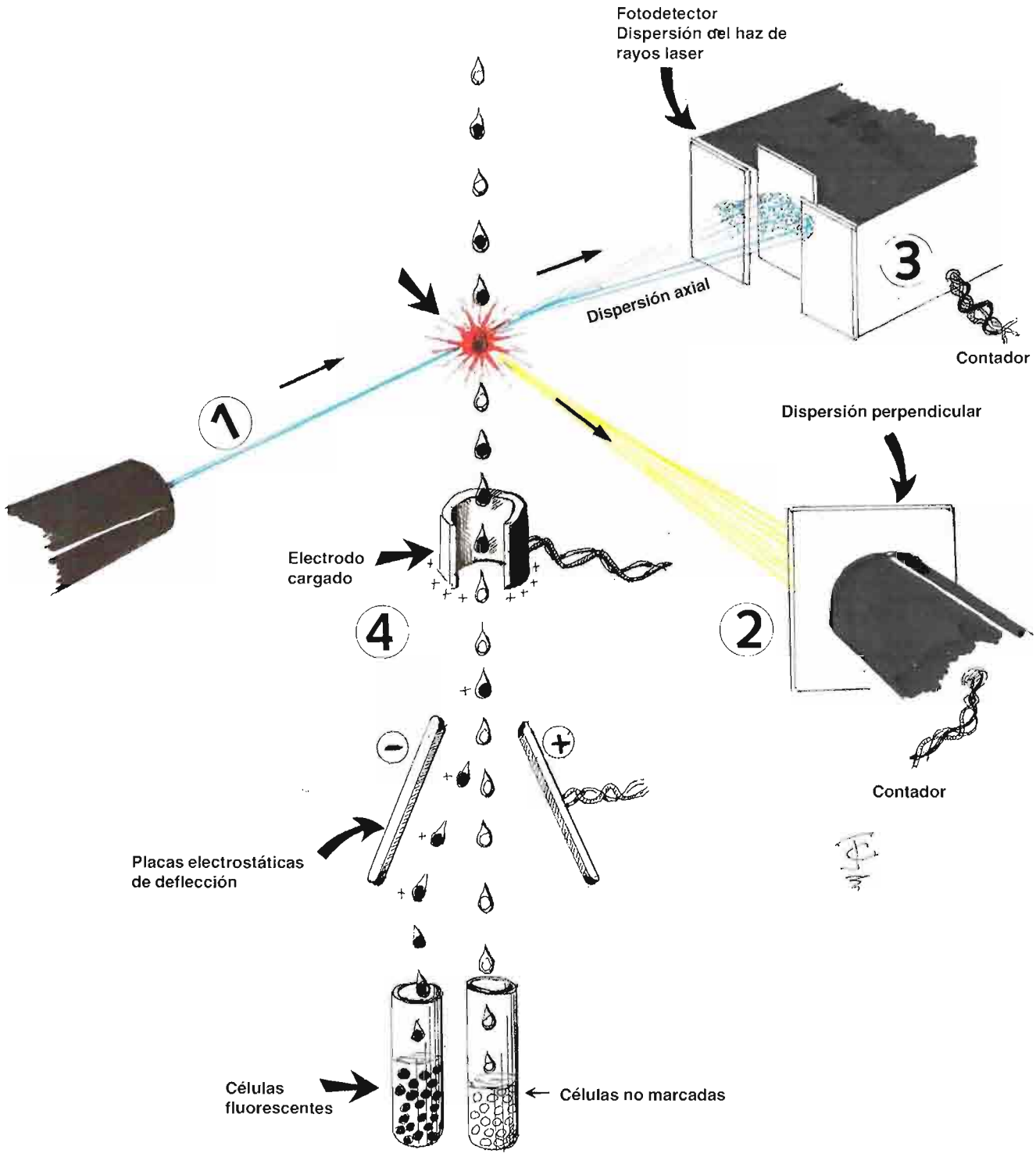



Figura 97

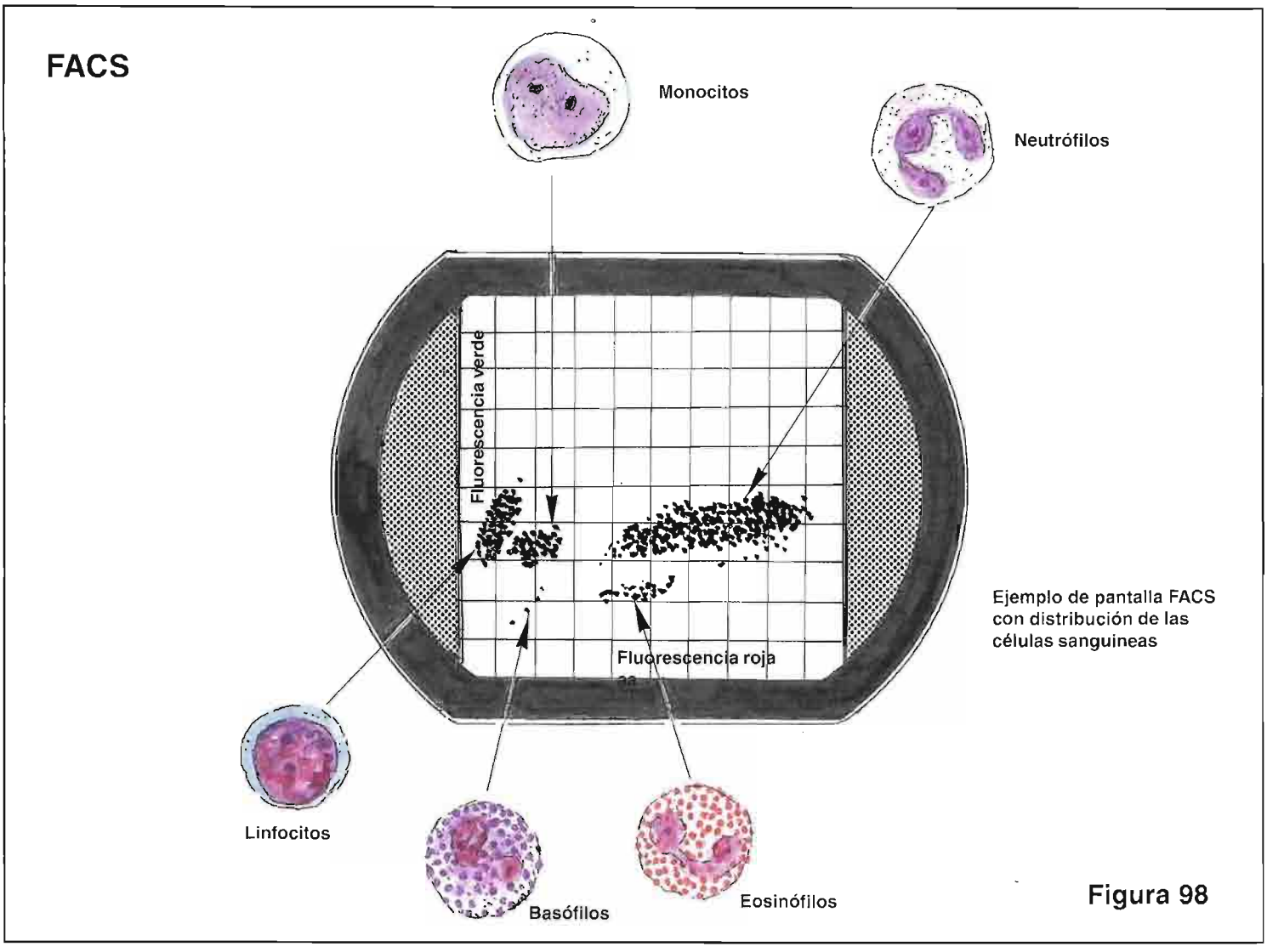



Figura 98

# 5.14 FACS o citofluorometría de flujo (flow cytometry)

Esta técnica analítica se basa en la inmunofluorescencia. Las células tratadas son analizadas o separadas según su grado de fluorescencia con un instrumento llamado **FACS** (Fluorescence Activates Cell Sorter).

El principio del FACS es el siguiente: una suspensión de células tratadas con AcM marcados con un fluorocromo (o bien con varios fluorocromos de espectros diferentes) es arrastrada con un chorro de suero fisiológico a través de un capilar. Este flujo celular es sometido a vibraciones de alta frecuencia, gracias a un vibrador de cristal piezoeléctrico. El flujo es así fracionado en miles de gotitas (400.000/segundo), conteniendo cada una de ellas una sóla célula.

La columna de gotitas atraviesa un rayo laser orientado perpendicularmente **(Fig. 97)** ❶. La célula marcada con fluorocromo y contenida en la gotita se vuelve fluorescente, lo que no sucede con las otras células que no han fijado el AcM específico. La fluorescencia (dispersión perpendicular) ❷ es captada por un sitema óptico. Las señales obtenidas,son transformadas en señales eléctricas que serán analizadas por ordenador. Otro detector situado en el eje del laser (dispersión axial) mide la dispersión ❸. Esta es proporcional al volumen de la célula. De esta manera se puede proceder a un análisis bidimensional de las poblaciones celulares **(Fig. 98)**.

El FACS permite distinguir las células vivas de las muertas al dar una dispersión de luz diferente. Las células raras (células cancerosas, células con cromosomas aberrantes, etc.) pueden ser localizadas en una población sanguinea, trabajo que sería impensable al microscopio. Por ejemplo se pueden aislar linfocitos B,medir el cociente CD4/CD8 en el SIDA, identificar las células portadoras de HLA con vistas a injertos, etc.

Los resultados son visibles sobre una pantalla de televisión y las gráficas obtenidas pueden ser registradas electrónicamente e imprimidas **(Fig. 98)**.

Para el escrutinio celular **("sorting")**, las gotitas cargadas electricamente ❹ son instantanea y selectivamente atraidas por un electrodo según los datos obtenidos gracias al laser (fluorescencia y volumen). Al pasar entre dos placas electrostáticas las células son desviadas según su carga ❺. El sistema esta regulado de tal manera que las células caen en diferentes tubos según sus caracteristicas. Así se pueden diferenciar individualmente y muy rápidamente un número considerable de células (5000 a 10.000/seg.) Ciertos dispositivos permiten sembrar pocillo a pocillo las placas, por ejemplo con miras a un clonaje, para el aislamiento de un hibridoma, etc.

# TEST DE LIBERACION DE MEDIADORES CELULARES

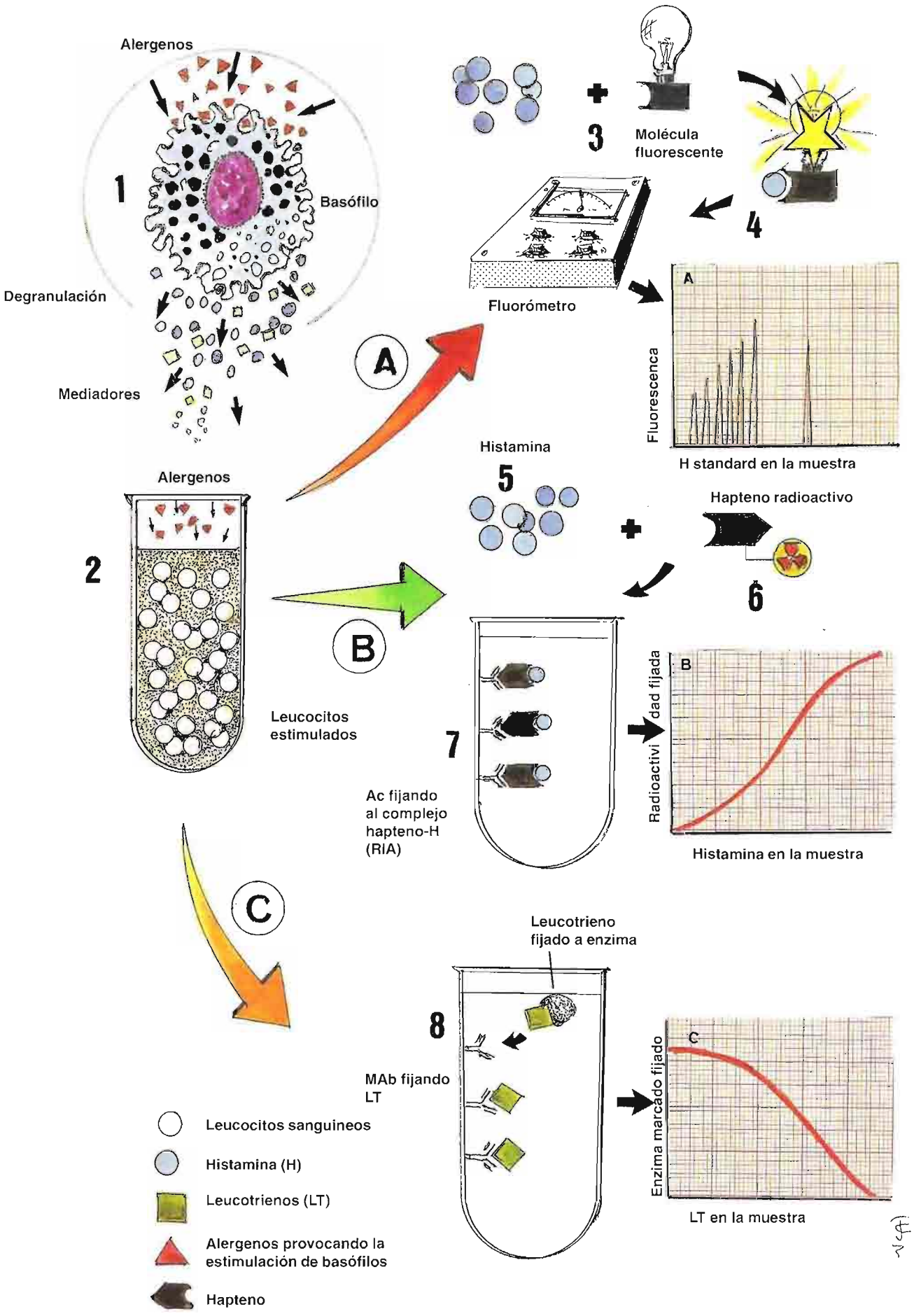



Figura 99

# 5.15 Test de liberación de mediadores celulares

Los test basados en la determinación de IgE liberada en el suero no nos dan más que una información indirecta en cuanto a la existencia de una alergia: no son estos anticuerpos libres, si no los fijados a la membrana celular de matocitos y basófilos los responsables de la activación de las células y de la liberación de mediadores, tales como la histamina y leucotrienos. A fín de cuentas, son estos mediadores los responsables de los síntomas clínicos alérgicos. Además, el nivel de anticuerpos IgE específicos en el suero no corresponde exactamente, a nivel individual, con la intensidad de los síntomas clínicos. Ciertos pacientes pueden tener una IgE elevada y relativamente pocos síntomas, mientras que otros tienen una IgE relativamente baja, pero muchos síntomas. Esto es debido a que la reactividad celular y la capacidad de las células para producir mediadores varía considerablemente de un individuo a otro, y así mismo, en un mismo individuo de un periodo a otro. La capacidad de producir mediadores es así pues, además de los anticuerpos específicos contra el alergeno, un parámetro variable ("releasability"). Parece que ciertas citoquinas, en particular IL-3, IL-5 y GM-CSF ejercen una influencia importante sobre este parámetro.

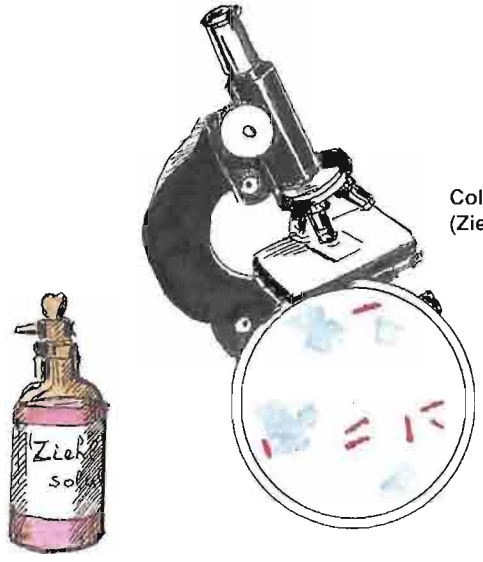
Han sido desarrollados diferentes test que permiten evaluar la liberación de mediadores trás el contacto con el alergeno. Uno de los primeros test, que ha sido utilizado durante mucho tiempo en investigación, es el de la **liberación de histamina (Fig. 99)**. Los leucocitos de la sangre entre los que se encuentran los basófilos cargados de histamina, se ponen en contacto con el alergeno implicado. Si sobre la superficie de los basófilos hay IgE específica para este alergeno, la reacción desencadenará una degranulación y una liberación de histamina. Esta reacción puede intensificarse por la adición de una pequeña cantidad de citoquina, por ejemplo IL-3. La detección de la histamina liberada en el sobrenandante celular puede llevarse a cabo por fluorometría **(Fig. 99 A)**, ya que la histamina reacciona relativamente de manera específica con ciertos reactivos químicos fluorescentes. Otra posibilidad es el análisis inmunoquímico, después de que la histamina haya sido conjugada químicamente con otra molécula (hapteno), contra la cual ha sido producido un anticuerpo monoclonal **(Fig. 99 B)**. En efecto, debido a su pequeño tamaño ha sido dificil hasta el momento, producir anticuerpos estrictamente específicos contra la histamina.

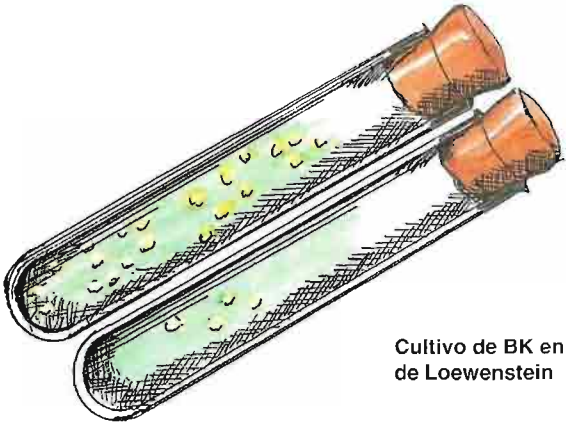
Otra posibilidad es determinar la **producción de leucotrienos**, en particular LTC4 y sus metabolitos LTD4 y LTE4 en el curso de la reacción alérgica "in vitro". Los leucotrienos pueden ser analizados gracias a un anticuerpo monoclonal específico, por medio de una reacción inmunoquímica de tipo ELISA detectando el desplazamiento competitivo de los leucotrienos naturales provinientes de las células en relación con una cantidad determinada de leucotrienos standard unidos a un enzima y fijados sobre el anticuerpo.

A parte de la investigación fisiopatológica en alergología, estos test celulares tienen cada vez más indicaciones, tales como la detección de alergias en la infancia, el seguimiento de la inmunoterapia específica, la decisión terapéutica de una inmunoterapia en casos en los que hay una discrepancia entre la anamnesis, la serología y las pruebas cutaneas, así como en ciertos casos de alergia o de pseudoalergia a medicamentos.

# TEST RAPIDO DE DIAGNOSTICO DE LA TUBERCOLOSIS

## METODOS CLASICOS: MICROSCOPIO Y CULTIVO



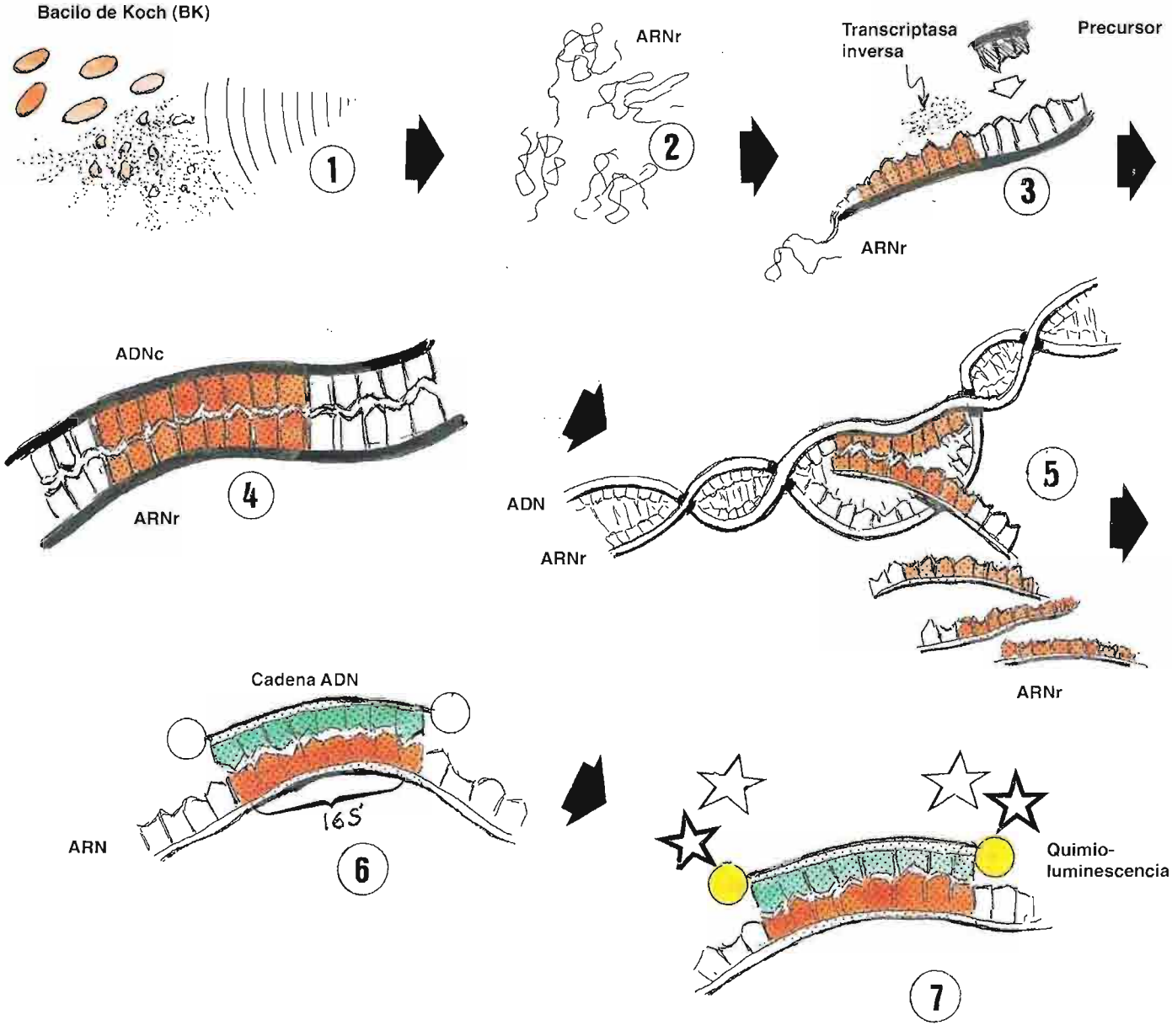




Figura 100

# 5.16. La biología molecular, hermana gemela de la inmunología. Test rápido para el diagnóstico de la tuberculosis

Genética, bilogía molecular e inmunología están cada vez más asociadas. Se han convertido en veraderas "hermanas gemelas".Por esta razón, en numerosos casos no se puede hablar de una de estas técnicas sin mencionar a otra, bien sea para compararlas, combinarlas o cambiarlas. Hemos puesto varios ejemplos. Un ejemplo particularmente sorprendente es el del nuevo test rápido para el **diagnóstico de la tuberculosis** (GEN-PROBE).

La tuberculosis que creíamos en vías de extinción está resurgiendo de manera dramática, favorecida sobre todo por el SIDA y los graves conflictos, principalmente en Africa.

Los métodos de diagnóstico clásicos, microscopio y cultivo, son todavía actuales pero no siempre son fiables, o son demasido lentos (4 a 6 semanas para los cultivos de Loewenstein o derivados). Es sobre todo en el caso de la tuberculosis "cerrada", paucibacilar, en la que el diagnóstico precoz es importante. Estas formas de tuberculosis son las más frecuentes en Africa: meningitis, pleuritis, tuberculosis oseas o ganglionares, renales, etc. Cuanto más precoz sea el tratamiento más posibilidades de curación de la tuberculosis habrá.

El nuevo test GEN-PROBE permite efectuar el diagnóstico de la tuberculosis, a partir de una concentración teórica de por lo menos una bacteria en menos de cuatro horas. Está basado por una parte en la hibridación de un pequeño segmento del gen del B.K. (bacilo de Koch) y por otra parte en el aumento considerable (amplificación) del número de fragmentos diana de los genes (ARNr).

La **Figura 100** resume el principio de la técnica:

En ❶ los B.K. potencialmente presentes en la muestra son lisados por ultrasonidos (US), de manera que se rompe su espesa pared permitiendo la liberacion de ARN. **El objetivo del test es el ARN ribosómico (ARNr) del B.K.,** concretamente su tipo 16S. El ARNr es importante ya que está presente en cantidad mucho más elevada que el ADN ❷.

Estos ARNr sirven de "molde" para fabricar ❸ otras copias de ADN **(ADNc)** con la ayuda de enzimas específicas, entre otras la transcriptasa inversa **(TR)**,gracias a la cual,poniendo un nucleótido trás otro, se lleva a cabo una multiplicación muy importante (amplificación). El mecanismo es desencadenado por un "precursor" de algunos nucleótidos. En rojo se simboliza la parte del gen a examinar, una subunidad del ARNr (16 S).

En ❹–❺ el híbrido ARNr – ADNc permite en algunos ciclos, a una temperatura fija, producir numerosas copias (millones) y así aumentar considerablemente la sensibilidad del test.

La detección de las copias se hará por una hibridación de las subunidades 16S (ARNr) con una sonda ADN (en verde) marcada con el ester de acridinium ❻ (EA). Este tipo de medida es la quimioluminescencia directa (CL), es decir que en el momento de la deteccción se añade un reactivo que produce una liberación de energia que se manifiesta bajo la forma de emisión de luz. Esta será medida y es registrada por un fotomultiplicador.

Los ahorros importantes que se desprenden de un diagnóstico rápido pueden ser considerables y justificar su costo a veces elevado del test.

4ª Parte

# Vacunas

## 4.1 Alergenos naturales y alergenos recombinantes

Los alergenos utlizados para el diagnóstico alergológico, por ejemplo para los test cutaneos o para la inmunoterapia específica se obtienen por regla general por extracción acuosa (**Fig. 71 ❷**) a partir de materias primas como los pólenes,alimentos, pelos de animales, venenos de himenópteros, hongos, cultivos de ácaros del polvo, etc. (**Fig. 71 ❶**). Estos alergenos se califican como **naturales**. Los componentes que funcionan como alergenos son en la mayor parte de los casos proteinas aunque algunos alergenos son de nauraleza polisacárida.

El proceso de extracción es empírico. Numerosas sustancias distintas a los alergenos deseados son extraidas igualmente al mismo tiempo. La calidad de un extracto alergénico, es así pues fuertemente dependiente de la pureza y de la homogeneidad del material de base que haya servido para la extracción. La determinación cuantitativa de los alergenos presentes en un extracto determinado y su estandarización plantean todavía hoy en día numerosos problemas. Al principio, la cantidad del alergeno venía expresada en **peso/volumen (unidades Noon),** basadas sobre el peso de la materia bruta en relación con el volumen de solución utilizada para la extracción. Es claro que la reproductividad de un proceso semejante no puede ser más que aproximada. Más tarde, se determinó la cantidad de **nitrógeno proteico** (**PNU**: Protein Nitrogen Unit) presente en el extracto final. Este método no es tampoco satisfactorio ya que numerosas proteinas no alergénicas podían contaminar el extracto final (**Fig. 71 ❹**).En la actualidad, la estandarización de los alergenos se basa en métodos serológicos (reacción con IgE especificas determinadas por inhibición mediante un test RAST estandarizado) o en test cutaneos con diferentes diluciones en un grupo de pacientes alérgicos. Estos procedimientos han llevado a la definición de **unidades biológicas** (por ejemplo la **unidad AU**, definida por un procedimiento estandarizado por la FDA americana o la **unidad HEP**, definida por otro procedimiento en los paises escandinavos). Desgraciamente no existe todavía una Unidad Biológica Internacional universalmente reconocida. Los esfuerzos hechos por los investigadores, la industria farmacéutica y las organismos de control, han llevado en estos últimos años a una mejora considerable de la calidad de los extractos alergénicos para los alergenos mayores usados en el diagnóstico y en la inmunoterapia. Estos esfuerzos han permitido así mismo aislar e identificar en los extractos alergénicos un cierto número de moléculas presentes como **alergenos mayores**. Un alergeno mayor, como la proteina Bet V1 en los extractos de pólenes de abedul, puede ser definido como tal ya sea porque la respuesta inmunológica de un individuo alérgico, particularmente sus anticuerpos IgE específicos, vaya dirigida en su mayor parte contra esta molécula, o bien porque la mayoría de los individuos alérgicos al extracto alergénico completo estén sensibilizados contra esta molécula. La prepación de alergenos proteínicos en estado puro ha permitido definir su estructura así como la estructura total o parcial de su ADN correspondiente. Esto lleva, usando técnicas de biología molécular clásicas, a la síntesis completa "in vitro" de alergenos recombinantes. El gran avance de los **alergenos recombinantes** reside en el hecho de su estructura homogenea (**Fig. 71**), perfectamente conocida y su síntesis totalmente reproducible. Las etapas comprenden la extracción del ARN del polen (**Fig. 71 ❺**), la transcripción en ADN **❻** y su multiplicación por PCR **❼**, seguida de la expresión del ADN por un bacteriófago **❽**, la integración en un plásmido de E. coli y el clonaje de tales bacterias **❾**.

Así mismo es posible, usando esta técnica, producir en cantidades prácticamente ilimitadas, alergenos raros cuya materia prima es dificil de conseguir. Los alergenos recombinantes deberían en sí permitir mejorar considerablemente la calidad del diagnóstico y del tratamiento alergológico. Sin embargo, el problema está en que la mayor parte de las materias primas y los extractos alergénicos naturales, contra los cuales nuestros pacientes están sensibilizados, no contienen un sólo alergeno mayor sino que en general contienen varios tipos de moléculas alergénicas muy diferentes. Una reconstrucción completa por biología molecular del vasto inventario de los alergenos naturales es un empresa que requiere gran esfuerzo y de interés económico dudoso. Además, este acercamiento es posiblemente válido sólo para los alergenos de naturaleza exclusivamente proteica.

No queda más que la introducción de los alergenos recombinantes, cuya lista es ya considerable, repleta por vez primera de moleculas bien definidas como alergenos para la investigación alergológica. Así mismo esta permitido aplicar los nuevos avances al tratamiento específico de la alergia, por ejemplo bajo forma de fragmentos de alergenos que inducen una tolerancia inmunológica (epítopos T, 1.13) o bajo forma de vacunas mixtas, en las que la fracción de ADN del alergeno se une a un retrovirus inocuo para el paciente alérgico al que le será sumisitrado (ver por analogía la vacunación de los peces con vacunas mixtas parecidas, 4.5).

# NEUTRALIZACION DE TOXINAS

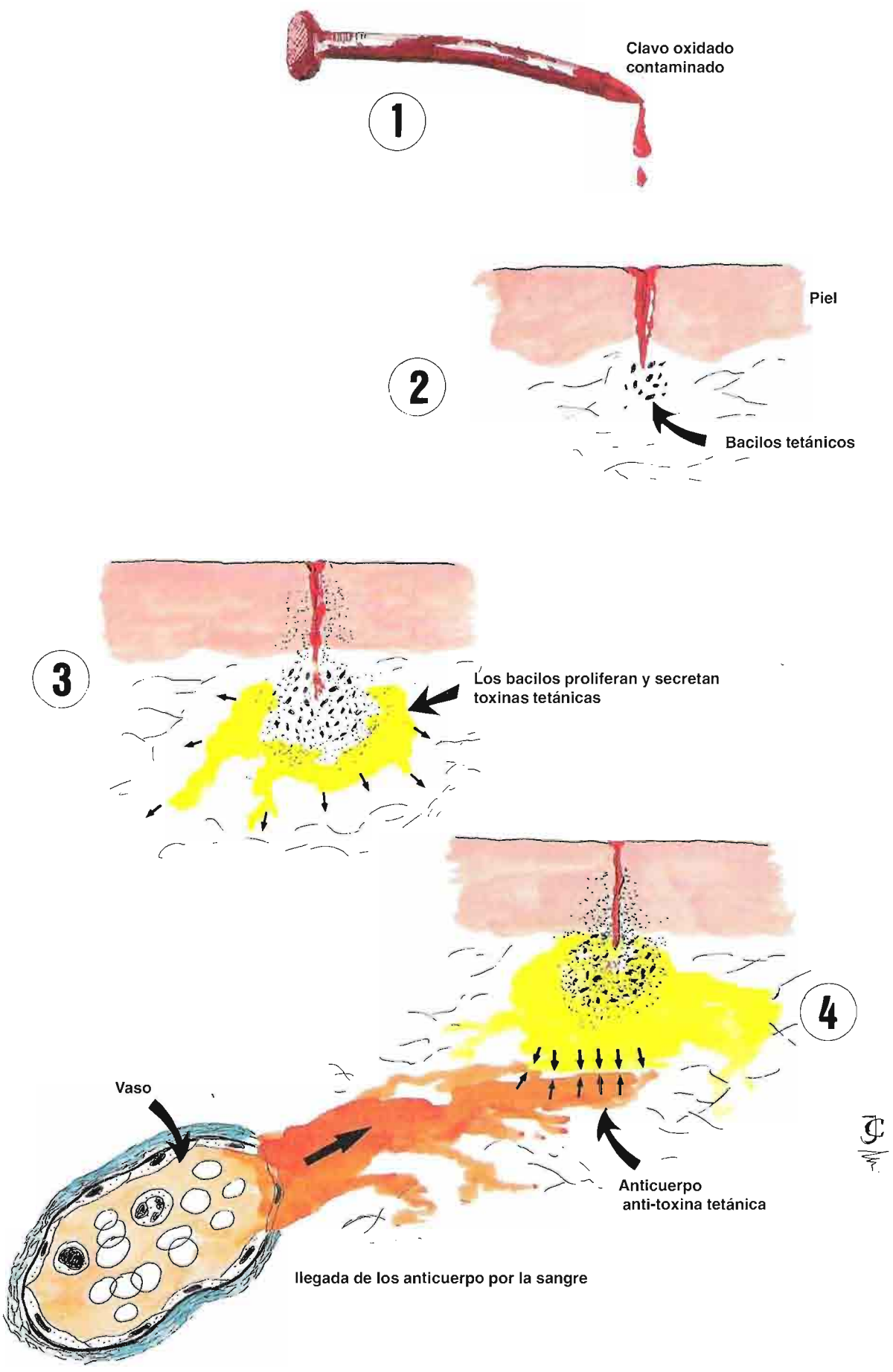



Figura 72

# 4.2 Vacunas antitoxinas, antimicrobianas y antivirales

Los anticuerpos pueden neutralizar las toxinas microbianas siempre y cuando esten presentes en cantidades suficientes. Este es el caso del tétanos, la difteria, el botulismo, la gangrena, etc. Los anticuerpos están presentes en el organismo, sólo si ha habido una infección inmunógena previa. Esta reacción primaria provoca la aparición por una parte de anticuerpos específicos secretados por los plasmocitos y por otra parte la aparición de las células memoria. Son estas últimas las que al producirse una nueva infección se transforman en plasmocitos que sintetizan rápidamente anticuerpos específicos. La vacunación contra las bacterias o virus (por ejemplo poliomielitis) crea esta **memoria inmunológica**. La vacunación se hace con gérmenes muertos o virus atenuados, es decir ligeramente modificados en comparación con los gérmenes o virus patógenos originales. Los anticuerpos así sintetizados, son muy similares a los anticuerpos originados por los microbios o virus vivos. Hay una **antigenicidad cruzada**. La vacunación contra ciertas afecciones, en las que el elemento infeccioso es una **toxina**, se lleva a cabo con toxinas neutralizadas llamadas **anatoxinas o toxoides**. El principio es el mismo: la anatoxina se asemeja antigénicamente a la toxina pero no entraña riesgos.

La **Figura 72** esquematiza lo que sucede en el tétanos. Un clavo oxidado ❶ portando los gérmenes del tétanos. En ❷, la herida producida por el clavo no es profunda ni importante, pero se desarrollan en ella los microbios anaerobios, es decir que no necesitan óxigeno para multiplicarse. Rápidamente, la pequeña colonia de microbios segrega toxinas muy virulentas ❸. Los anticuerpos presentes en la sangre "acuden" inmediatamente, para neutralizar ❹ las toxinas. Si el sujeto no es portador de anticuerpos, bien sea porque no haya sido vacunado o porque no haya sufrido nunca una infección previa, es preciso inyectarle anticuerpos completamente preparados, ya que no tendrá tiempo de sintetizarlos. Es la **seroterapia**, es decir, la inyección de suero que contiene anticuerpos específicos. Para evitar las reacciones a las inmunoglobulinas del caballo (el caballo ha servido durantre mucho tiempo para fabricar suero con efectos terapéuticos), se usan cada vez más sueros a base de gammaglobulinas específicas humanas.

La **vacunoterapia** se basa en el uso de sustancias antigénicas con vistas a la producción de anticuerpos por el organismo, mientras que la **seroterapia** se basa en el aporte de anticuerpos ya preparados para actuar y se usa cuando no hay tiempo para vacunar.

El uso de anticuerpos recombinantes ha permitido realizar grandes progresos en el campo de las vacunas.

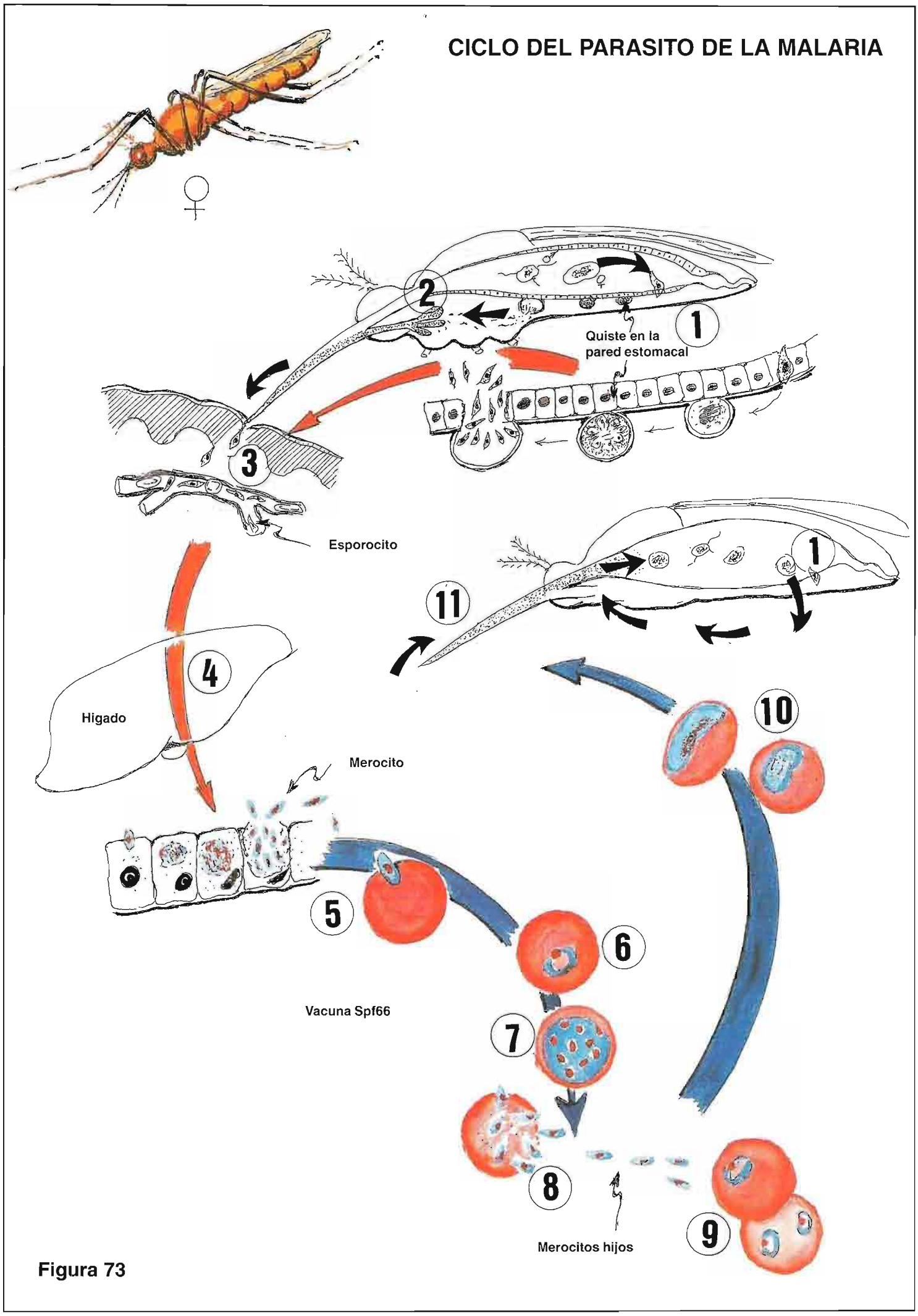

CICLO DEL PARASITO DE LA MALARIA
♀
2
1
Quiste en la
pared estomacal
3
Esporocito
1
11
4
Higado
10
Merocito
5
6
Vacuna Spf66
7
8
9
Merocitos hijos

Figura 73

# 4.3. Malaria: la busqueda de una vacuna. Las dificultades

La malaria es una de las enfermedades más extendidas en el mundo: 300–400 millones de casos en los paises tropicales, de uno a tres millones de victimas por año en Africa tropical, sobre todo entre la población menor de 5 años. Es la principal causa de anemias graves así como de numerosas complicaciones, con frecuencia mortales.

La malaria crónica, crea una inmunidad parcial que a menudo aparece después de la edad de 6 años, inmunidad sostenida por reinfecciones continuas. El viajero que no toma medidas estrictas está sujeto a un gran riesgo. ¡Una sóla picadura puede matar!. Lo mismo sucede con los africanos y asiáticos que vuelven a su pais trás uno o dos años de estancia en una zona templada exenta de malaria.

Además han aparecido especies del mosquito (anopheles) resistentes a los insecticidas, así como parásitos de la malaria resistentes a los medicamentos antimalaria clásicos. Este es en particular el caso del **Plasmodium falciparum**, considerado como el más patógeno. Se han probado numerosos medicamentos que a menudo son eficaces pero sin embargo tóxicos. De ahí el deseo, quizas utópico, de disponer de una vacuna.

## 4.3.1. El ciclo del parásito

Para comprender la complejidad del problema recordaremos el ciclo del parásito **(Fig. 73)**.

El anopheles inyecta el parásito al hombre en estado de **esporozoitos** ❸. Estos, pasan rápidamente de la sangre al hígado ❹. Es durante este corto periodo (20–30 minutos) cuando es vulnerable a los anticuerpos. A continuación, protegido en la célula hepática ❺ se multiplica en ella. Cada esporozoito da lugar al nacimiento de 2000–40.000 **merozoitos** (en un máximo de 6 semanas). Estos merozoitos penetran en los glóbulos rojos ❺ ❻ gracias a un receptor de membrana. Quedan de nuevo protegidos de los anticuerpos y de los linfocitos inmunizados. Se multiplican ❼ dando 6–24 merozoitos hijos por merozoito ❽. Cada parásito es capaz de reinfectar un glóbulo rojo ❾ provocando la hemolisis en los brotes de malaria.

Hasta aquí la multiplicación es asexuada. A continuación aparecen las formas sexuadas: los **gametocitos** ❿ machos y hembras. Estos estan, presentes en los pequeños vasos de la piel, que son ingeridos por el mosquito ⓫. Los gametocitos son fecundados en el estómago del mosquito ❶ y forman un quiste en la pared estomacal de este. Finalmente, los numerosos esporozoitos formados en estos quistes migran hacia las glándulas salivares ❷ y el ciclo comienza de nuevo.

## 4.3.2. Ensayos para la producción de una vacuna antimalaria

La complejidad del ciclo del Plasmodium indica la extrema dificultad para la produción de una vacuna. Los antígenos varían a lo largo del ciclo.Además, las diferentes variedades de plasmodios no facilitan para nada el problema. En la actualidad, el acercamiento más valido es la vacuna contra los esporozoitos, por ejemplo con esporozoitos atenuados por exposición a rayos X. ¡Si llega a escapar un sólo parásito, ocurriría una catástrofe!. Una vacuna de este tipo prodría proteger no obstante al viajero parcialmente.

Gracias a los AcM se han podido localizar los receptores de membrana de los glóbulos rojos, a los cuales se fijan los merozoitos para penetrar en ellos. También se ha probado la producción de anticuerpos contra los gametocitos. Una vacuna contra los gametocitos protegería a la comunidad pero no al individuo. Dado que los parásitos presentes en los hepatocitos y glóbulos rojos están protegidos contra los anticuerpos y los linfocitos, se están llevando a cabo estudios con AcM "armados", es decir vectores de medicamentos antimalaria (primaquina), contra las células hepáticas.

La producción de vacunas polivalentes que actuen sobre las diferentes etapas del ciclo del parásito pudiera ser una solución, ¡pero a que precio!.

Entre los múltiples problemas a resolver, que se presentan para la producción de una vacuna, están entre otros el de poder cultivar el parásito. Esto está hecho. A continuación, identificar en el plasmodium los genes responsables de la síntesis de proteinas antigénicas y finalmente disponer del Ag en cantidades suficientes. Gracias a la ingeniería genética, se introducen los genes específicos en la E. Coli (ADN recombinado de Plasmodium falciparum) para así producir Ag específicos en gran cantidad.

Los estudios sobre vacunación han mostrado que los sujetos resistentes son los que tienen un título elevado contra el antígeno del esporozoito. En una primera fase, los investigadores elaboraron una vacuna contra los esporozoitos. El desarrollo del parásito en el hígado sería bloqueado también por una defensa asegurada por los linfocitos T, y quizás por la producción de interferón gamma. Esquemáticamente las diversas etapas a seguir serián: fabricar los Ac contra los esporozoitos previniendo así la invasión del hígado y de los glóbulos rojos, después fabricar Ac contra los merozoitos previniendo la multiplicación de estos en la sangre y órganos, disminuyendo por consiguiente la mortalidad y la transmisión, y finalmente fabricar anticuerpos contra los gametos bloqueando la transmisión a la comunidad. La vacuna final debería llevar teóricamente a la formación de una mezcla de Ac contra los diferentes Ag que aparecen a lo largo del ciclo del parásito.

La vacuna más avanzada en fase de prueba en el hombre (SPf 66) es una vacuna de síntesis anti-falciparum (constituida por diferentes péptidos del Plasmodium falciparum) que ejerce su acción a nivel de la fase eritrocitaria **(Fig. 73 ❺)** del ciclo.

Los problemas que quedan por resolver son múltiples y la investigación es intensa (actualmente se han puesto a punto varios tipos de vacunas). Problemas similares plantea el desarrollo de una vacuna contra el SIDA.

Vacunar a poblaciones enteras, conlleva evidentemente importantes problemas sociales y económicos.

A parte de las vacunas se están estudiando otras soluciones (biogenéticas y ecológicas).

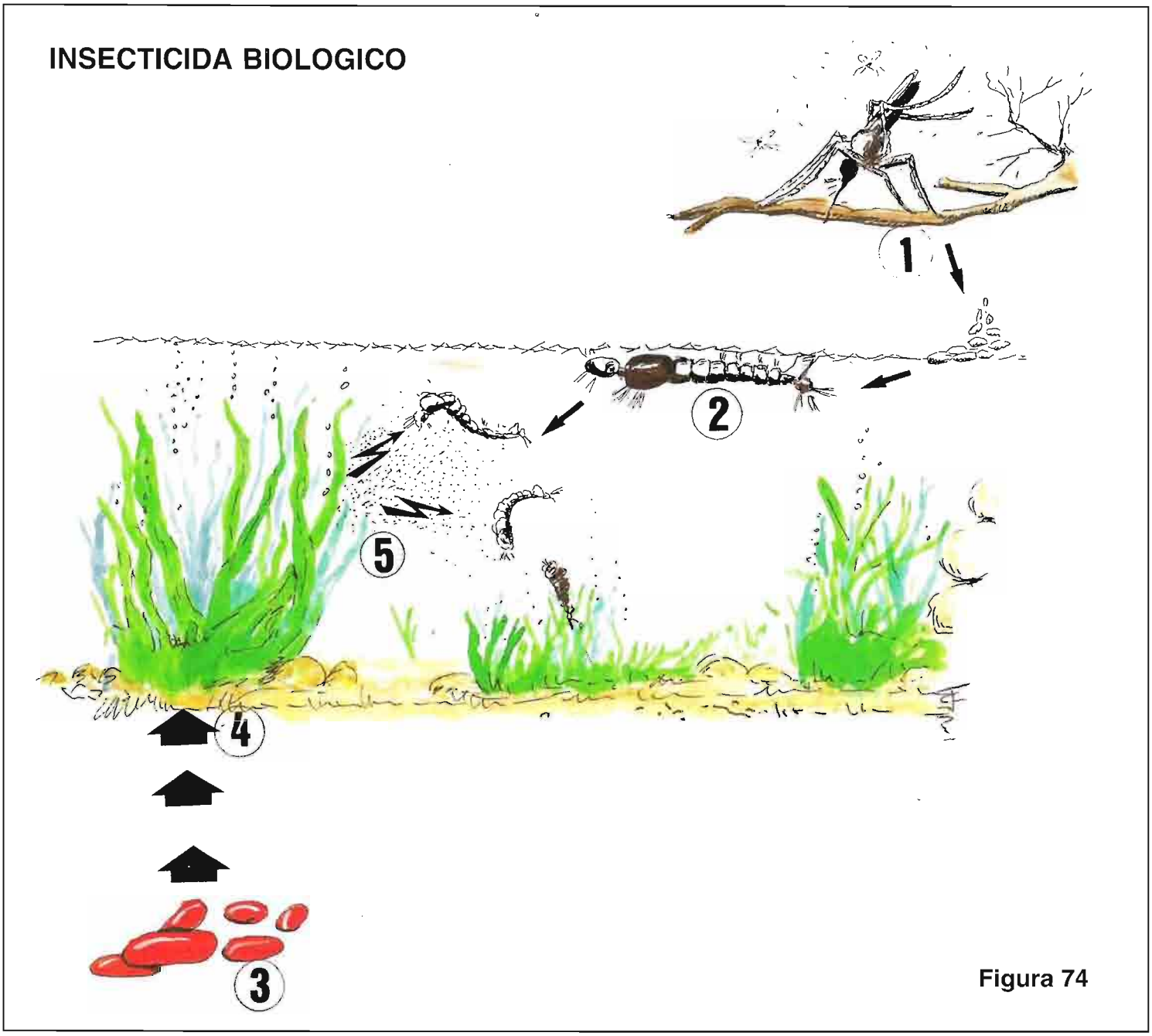



Figura 74

### 4.3.3. La ingeniería genética al servicio de la inmunología

La lucha contra la malaria consistió en sus comienzos, en la lucha contra los mosquitos, vectores de la enfermedad, usando insecticidas. Sin embargo, los insecticidas son armas de doble filo, por su efecto contaminante y tóxico (por ejemplo la indestructibilidad del D.D.T.) así como por el peligro de crear tipos de insectos resistentes.

Los insecticidas bilógicos por el contrario no son contaminantes. A través de innumerables trabajos, la biotecnología ha permitido aislar y cultivar entre otros un bacilo insecticida *(Bacilo thuringiensis)*. Los genes de este bacilo codificados por una tóxina proteica específica de acción insecticida, han sido aislados e inyectados en las algas verdeazuladas, presentes en todas las aguas dulces, donde se reproducen las larvas de los mosquitos, incluidos los vectores de la malaria (anopheles), de la fibre amarilla y de la oncocerquiasis.

Como consecuencia,estas algas producen una proteina tóxica para las larvas de los mosquitos. El uso de este "bio-insecticida" es relativamente antiguo. Se produce industrialmente en forma de polvo insecticida. La idea genial sería la de llegar a producir directamente por las algas, alimento de los mosquitos, este insecticida por ingeniería genética. Se están realizando estudios en este sentido.

Este parentesis sobre biotecnología pone de manifiesto que si la vacuna contra la malaria plantea en la actualidad problemas de dificil solución, hay – en estudio – otros métodos de lucha de los que sólo se puede decir que son ingeniosos.

El esquema de la **Figura 74** muestra en ❶ el mosquito poniendo sus huevos en la superficie del agua; ❷ la larva del mosquito. En ❸ el bacilo thuringiensis cuyos genes son inyectados en la lagas verdeazuladas ❹, el veneno secretado por estas algas, matando a las larvas del mosquito ❺.

# 4.4. Investigación y esperanza en la inmunoterapia del cancer

Desde hace mucho tiempo, los médicos intentan tratar el cancer con inmunoterapia. El sistema inmune destruye las células atacadas por un virus o un microbio, neutraliza las tóxinas y rechaza los injertos de tejidos reconocidos como extraños. ¿Porque no rechaza también las células modificadas por el cancer?

La teoría de Burnet postula que nuestro sistema de defensa rechaza sistemáticamente todas las células anormales. La aparición de un cancer sería pues el resultado del fallo de este sistema. Esta teoría no está confirmada.

He aquí, muy resumidas, las principales conclusiones de las innumerables investigaciones concernientes a la inmunología del cancer.

1. Los tumores **inducidos** experimentalmente en ratones por carcinogénicos químicos pueden desencadenar la aparición de antígenos de rechazo tumoral **inmunógenos**.
2. Los tumores murinos **espontaneos** son portadores de antígenos (Ag) de rechazo tumoral específicos pero son **poco o nada inmunógenos (Fig. 75).**
3. El descubrimiento de los **anticuerpos monoclonales** (AcM) ha revolucionado la inmunología, pero se ha puesto rápidamente de manifiesto que los anticuerpos tumorales aparentemente no juegan apenas un papel en el rechazo de los tumores. El sueño un tanto desvanecido de la "magic bullet" se trata en la página 63.
4. Recientemente ha sido demostrado **(Fig. 76 A)** que células murinas no inmunógenas tratadas con un agente mutágeno, pierden su capacidad de inducir un tumor ya que exprimen **Ag nuevos** capaces de desencadenar una reacción de **rechazo eficaz** semejante a la del rechazo de los injertos. Esta es provocada por los **linfocitos T citotóxicos** (LyTc).
5. Las tentativas para aislar los Ag responsables del rechazo tumoral han fracasado en su mayoría. Sin embargo, se han investigado y aislado los **genes codificantes de los Ag** reconocidos por los LyTc (en el caso de un melanoma, el gen llamado MAGE1).
6. En general el LyTc reconoce un péptido antigénico sólo si este último está combinado con una molécula HLA (ver **Fig. 21**). En el melanoma,el gen MAGE1 codificado por un péptido antigénico se sintetiza en el citoplasma de la célula cancerosa en donde se localiza en un locus de la molécula HLA-A1. El **complejo péptido MAGE + HLA-A1** (llamado Ag E) migra hacia la superficie de la célula cancerosa donde constituye el **Ag de rechazo tumoral (Fig. 76 B)**. Este complejo será reconocido por el LyTc. Dado que todos los péptidos antigénicos no se combinan con la molécula HLA-A1 y que por otra parte no todos los pacientes son portadores de esta molécula HLA, el número de candidatos susceptibles de beneficiarse de un rechazo de su tumor, por este mecanismo, es limitado (10% de los melanomas).
7. Otras células o moléculas diferentes pueden interevenir en el rechazo tumoral. Citaremos las células NK, los macrófagos y ciertas citoquinas (TNF, INF γ, IL-2) que activan las células responsables del rechazo.

Basandose en estas nociones aquí resumidas, se han concebido numerosos proyectos o estrategias de inmunoterapia. Pero teniendo en cuenta los numerosos misterios, ¿serán eficaces?.

Algunos de estos **proyectos de inmunoterapia antitumoral** se esquematizan a continuación:

1. Inyectar al paciente células cancerosas muertas (por ejemplo por la acción de los rayos X) portadoras del Ag del rechazo (por ejemplo en el melanoma el péptido MAGE1 +HLA-A1) con el fín de activar los linfocitos LyTc **(Fig. 77)**.
   Se podría también introducir en estas células un gen que codificara una interleuquina (IL-2) con el fín de amplificar la respuesta de los linfocitos presentes en la proximidad.
2. Insertar un gen tumoral como MAGE1 en el ADN de un virus atenuado y hacerlo penetrar en las células humanas con el fín de generar el péptido tumoral antigénico. Este, combinado con el antígeno HLA de estas células, podría desencadenar una reacción linfocitaria eficaz **(Fig. 78)**.

# INMUNOTERAPIA ANTICANCER

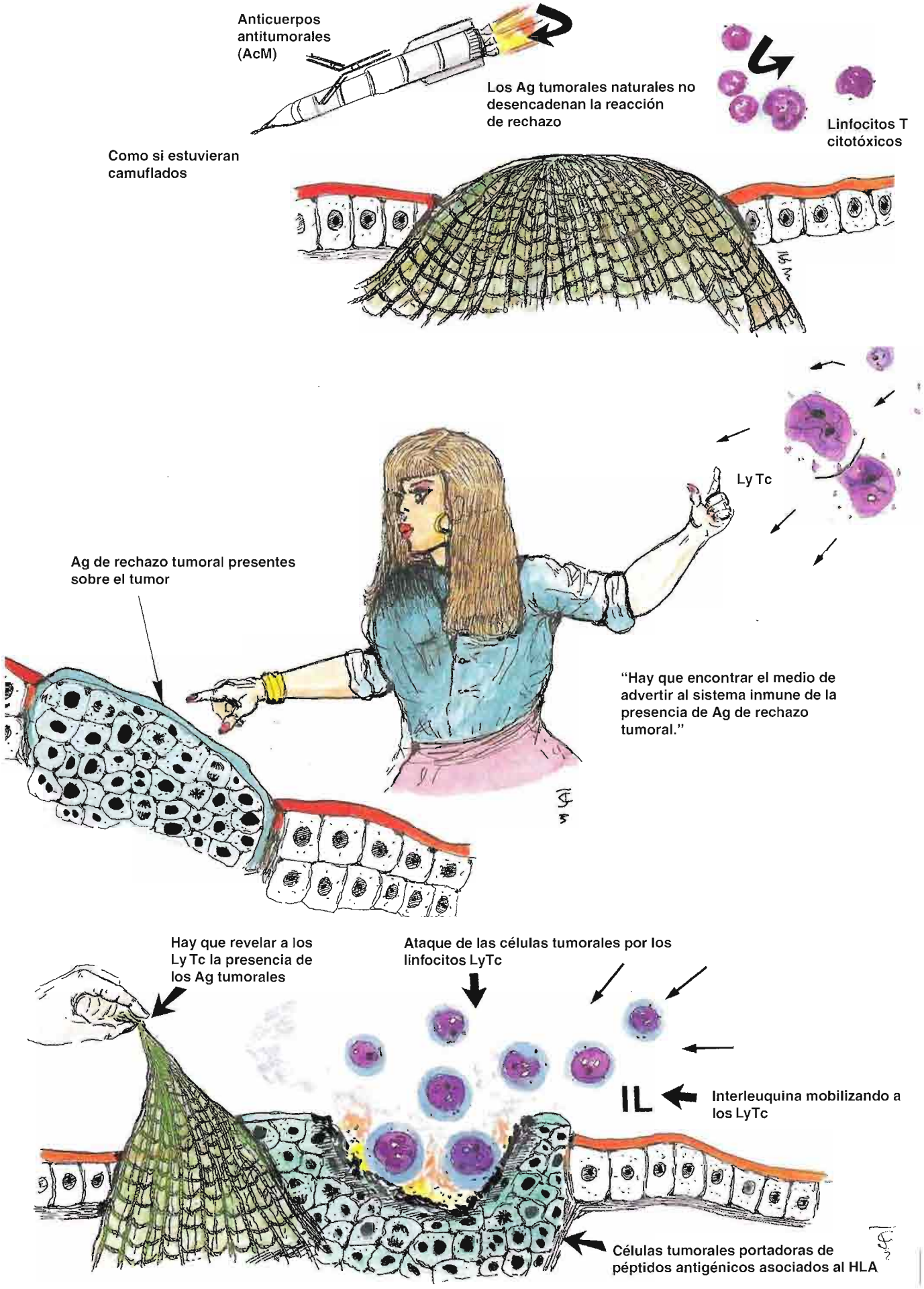



Figura 75

## INDUCCION DE UNA RESPUESTA INMUNE ANTITUMORAL

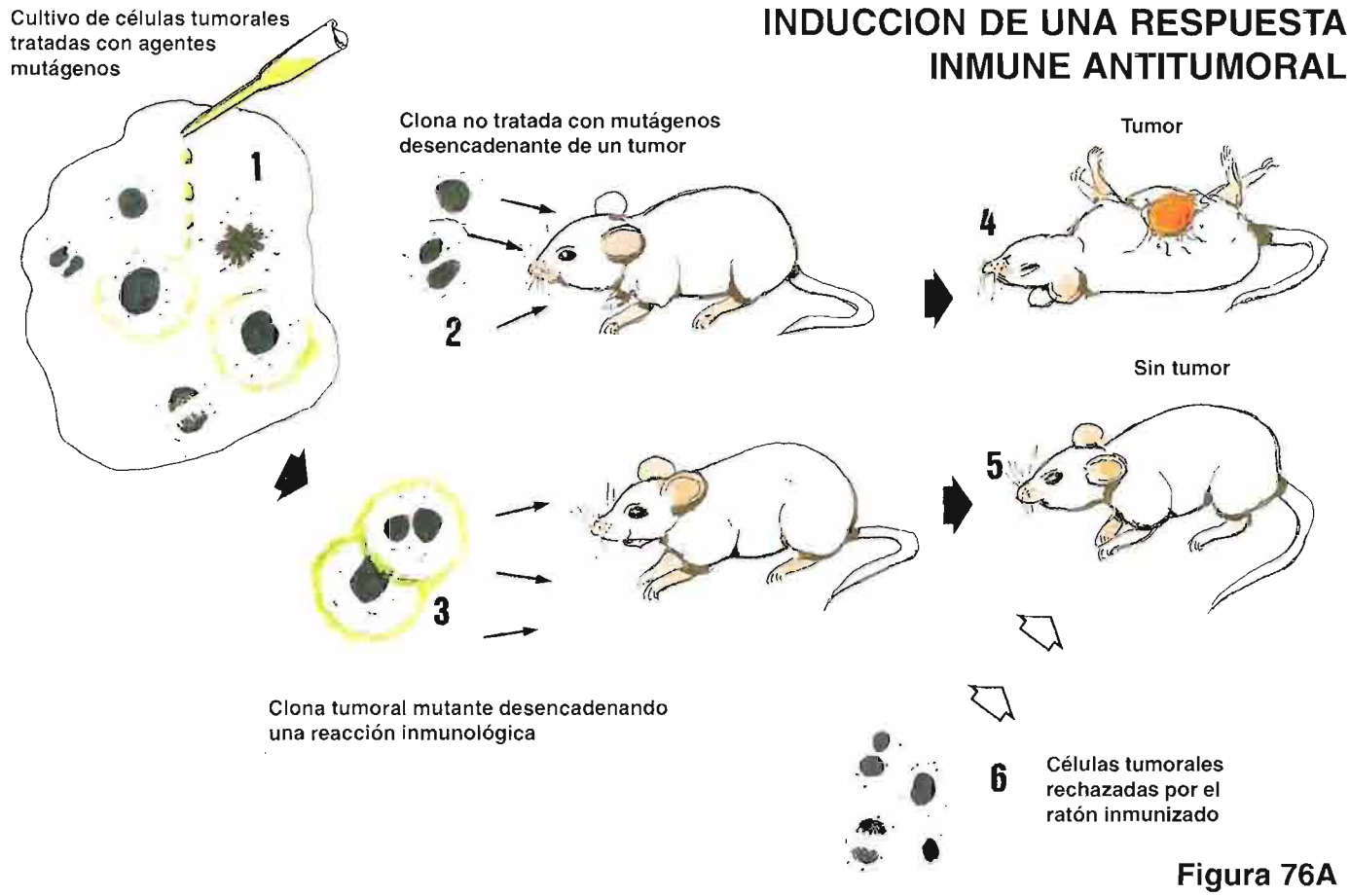



Figura 76A

## FORMACION DEL ANTIGENO TUMORAL Y RECONOCIMIENTO POR EL LINFOCITO T

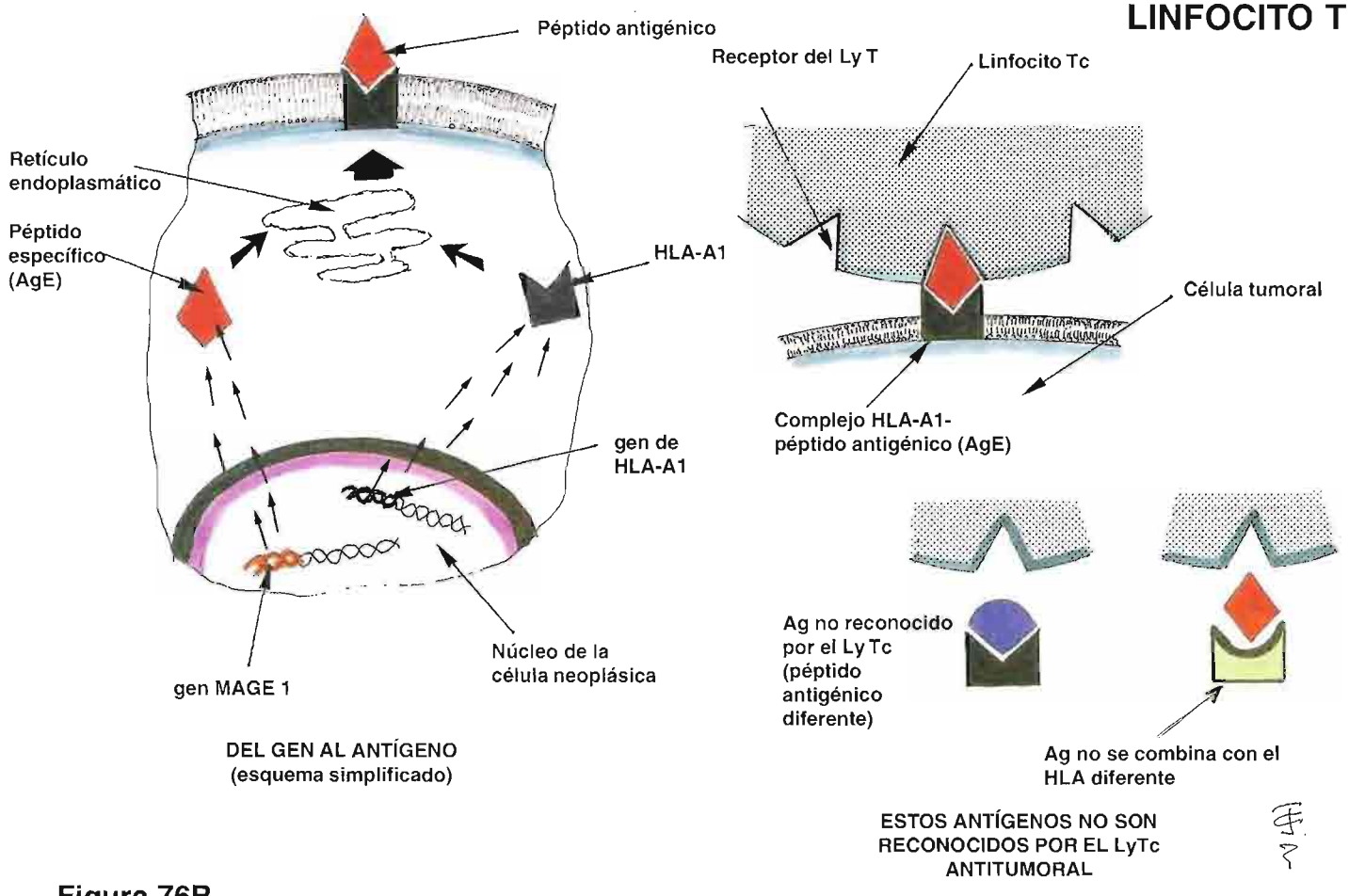



Figura 76B

## ENSAYOS DE INMUNOTERAPIA ANTITUMORAL (1)

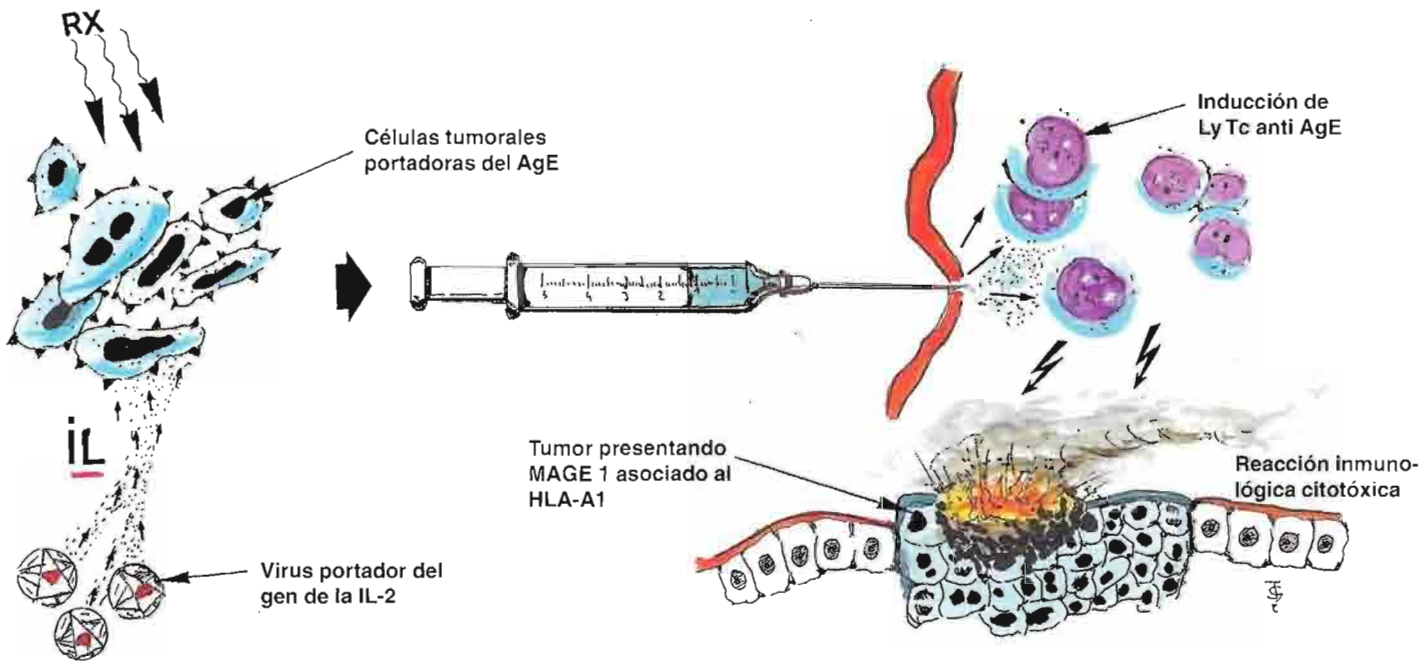



Figura 77

## ENSAYOS DE INUMNOTERAPIA ANTITUMORAL (2)

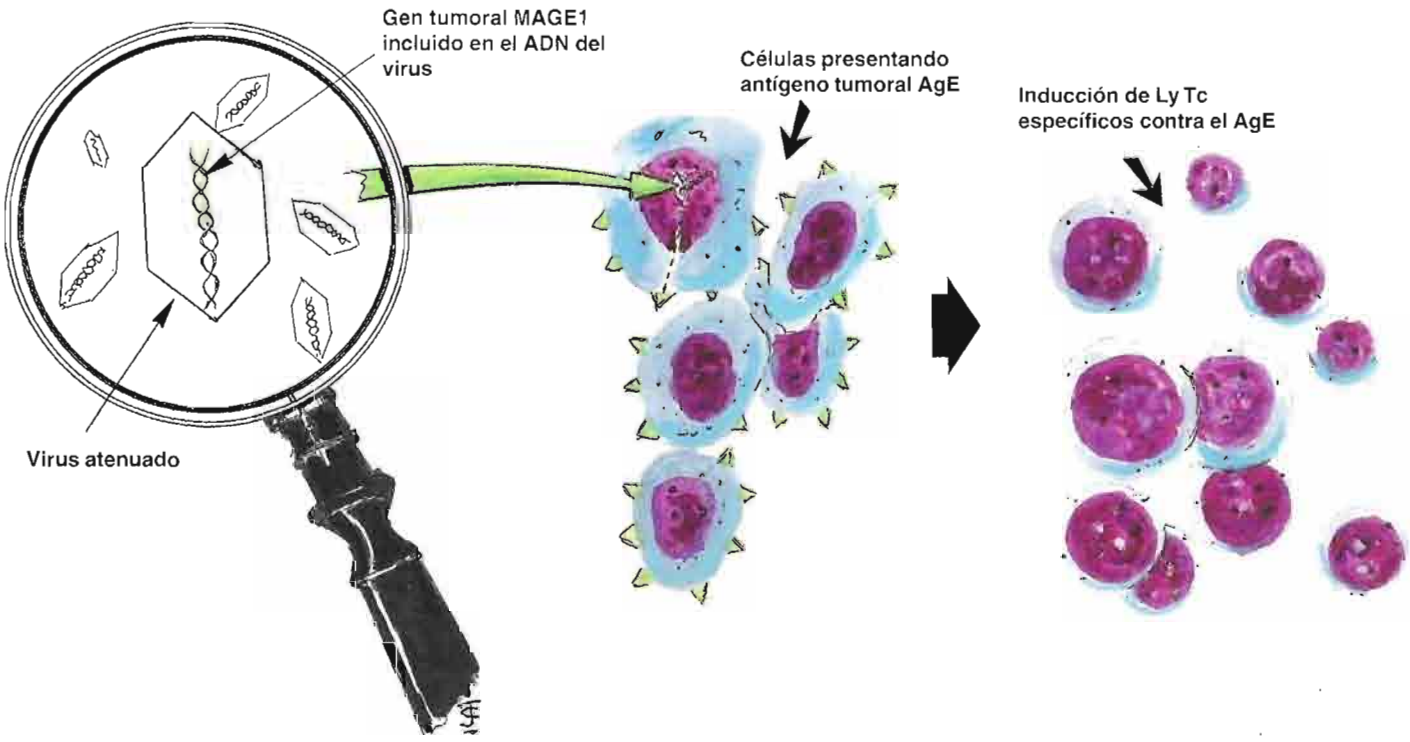



Figura 78

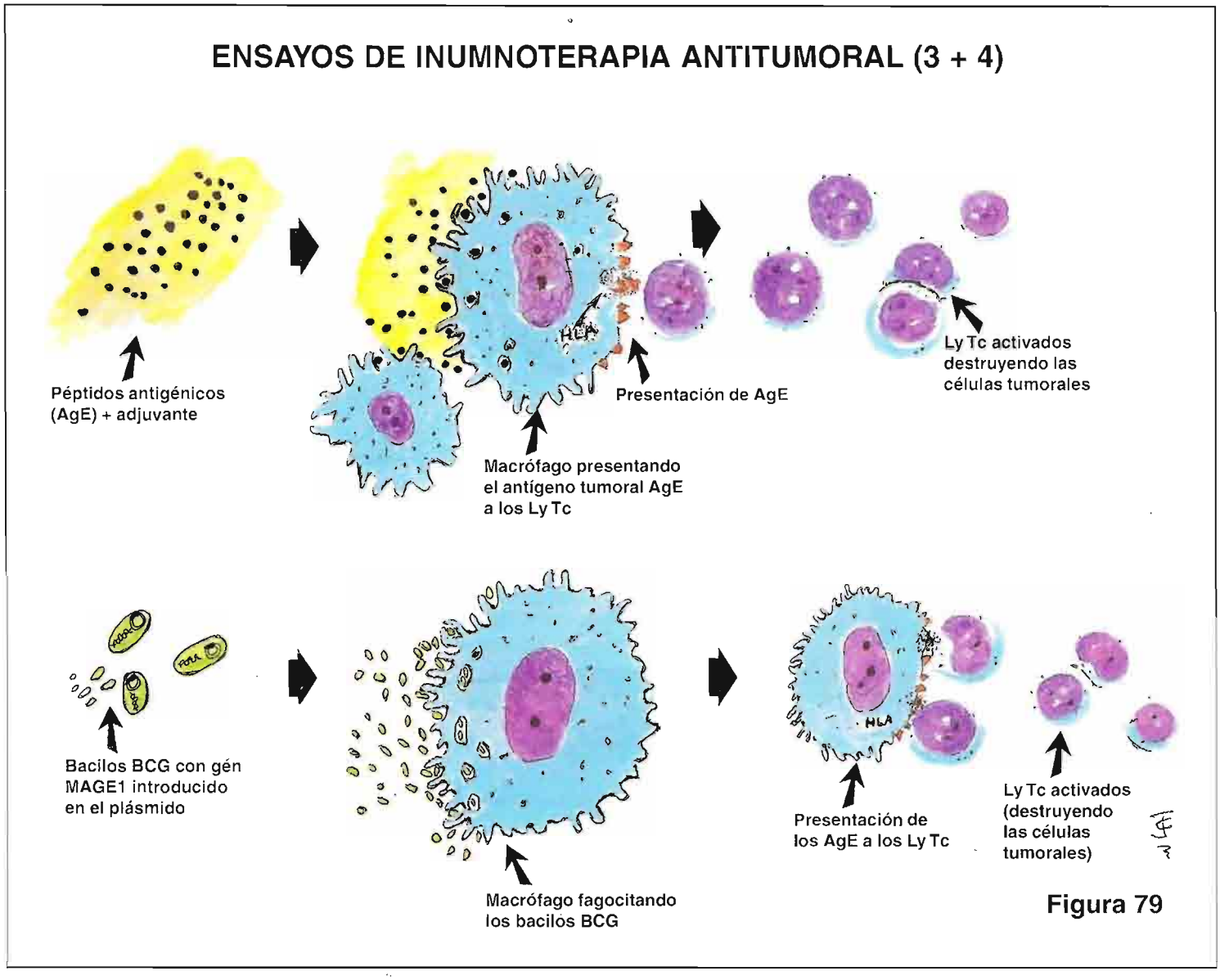



Figura 79

3. Combinar un péptido tumoral antigénico (por ejemplo el MAGE1) con un adyuvante. Este complejo sería fagocitado por un macrófago portador del HLA-A1 y presentado al linfocito Tc bajo la forma de Ag del rechazo tumoral. Los linfocitos activados atacarían a la célula cancerosa portadora del gen y HLA 1 (**Fig. 79 ❸**).
4. Recombinar un plásmido de BGC con un gen tumoral tal como el MAGE1. Las bacterias serían fagocitadas por los macrófagos (portadores de HLA-A1) formando un complejo HLA-péptido. Este sería presentado al LyTc desencadenando a nivel de las células cancerosas una reacción de rechazo específico (**Fig. 79 ❹**). Otros genes tumorales, a parte del MAGE1, cuyos productos se combinan con otros tipos de HLA en diferentes tipos de tumores están en estudio. La combinación de diferentes mecanismos que actuen simultaneamente aumentaría la eficacia de las "vacunas".

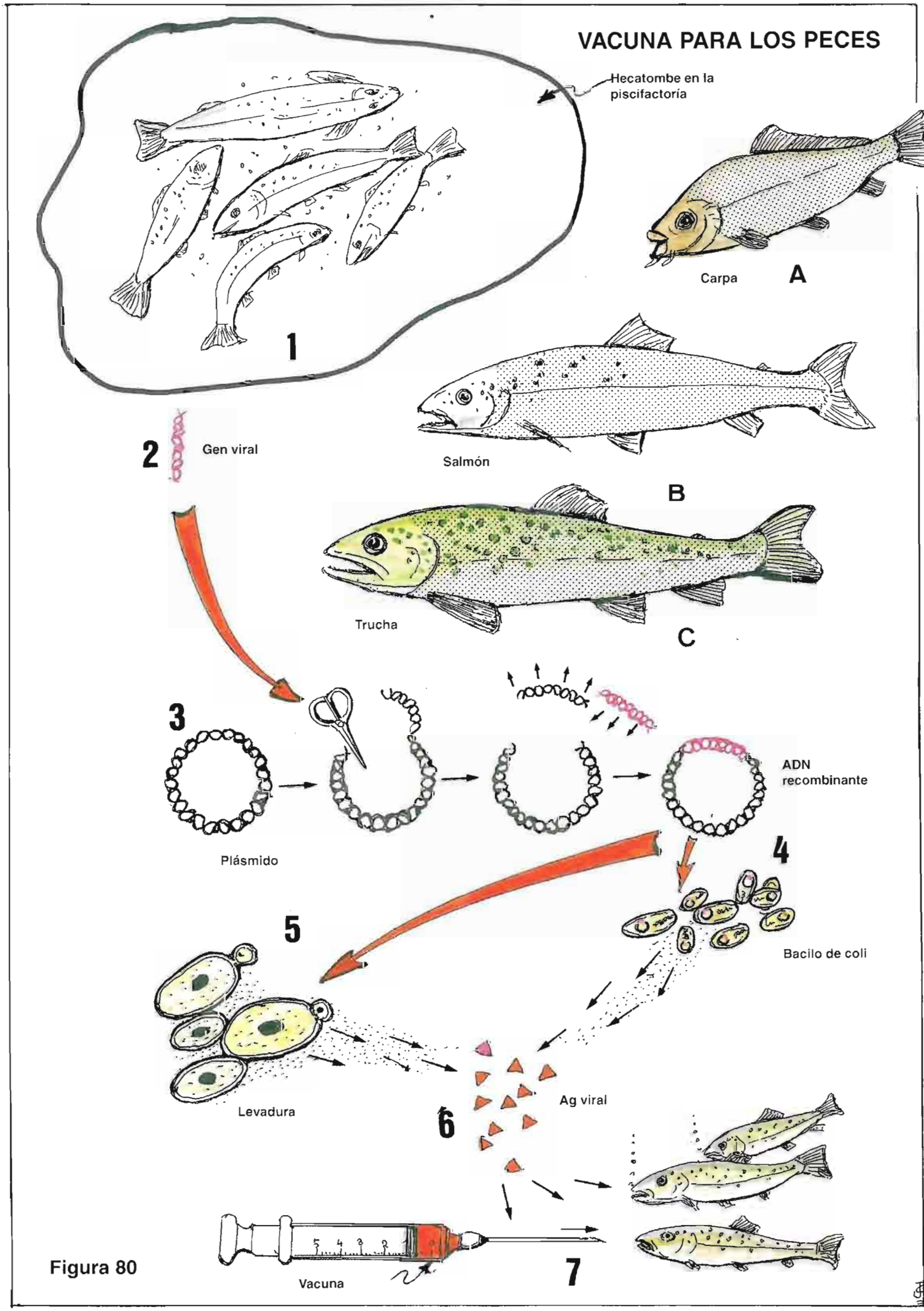

VACUNA PARA LOS PECES
Hecatombe en la piscifactoría
1
Carpa
A
Salmón
B
2
Gen viral
Trucha
C
3
Plásmido
ADN recombinante
4
Bacilo de coli
5
Levadura
Ag viral
6
Vacuna
7

Figura 80

# 4.5. Vacunar a los peces

La ingeniería genética en combinación con la inmunológia nos abre horizontes inesperados. Por poner un ejemplo, citaremos la vacunación de los peces.

En piscicultura, las afecciones virales (rhabdovirus) provocan importantes estragos y pérdidas económicas: un sólo pez infectado puede contaminar y destruir toda una piscifactoría.

Estas enfermedades son sobre todo: la viremia primaveral de la carpa **(Fig. 80 A)**, la forunculosis y la necrosis hematopoyética de los salmónidos **(Fig. 80 B)** y la septicemia hemorrágica de la trucha **(Fig. 80 C)**.

Gracias a técnicas sofisticadas usando ADN recombinado, se han elaborado vacunas antivirales eficaces. Un esquema elemental permite al lector no especializado hacerse una idea del principio de esta ingeniosa técnica.

**Figura 80**:
❶ el desastre que provoca una infección en una piscifactoría ya sea de carpas (A), de salmones (B), o de truchas (C) (salmónidos).

❷ Gén viral específico extraido de cultivos de virus provinientes de peces enfermos. En la actualidad es posible sintetizar estos genes gracias al conocimiento de su composición química.

❸ El gén es clonado en un plásmido

❹ y trasmitido a la Escherichia Coli, vector bacteriano o

❺ a una levadura (Saccharomyces cerevisiae).

❻ Estos microbios elaboran el o los antígenos (Ag) específicos del virus que serán a continuación bien extraidos de la E. Coli, o directamente secretados al medio de cultivo si se trata de levaduras.

❼ Estos antígenos son inyectados a los peces jovenes (con ±15 g) gracias a un instrumento ingenioso. La vacunación es posible haciendo nadar a los peces en un baño parcialmente anestésico.

La administración de estas vacunas por vía oral está en estudio.

# INMUNODIFUSION

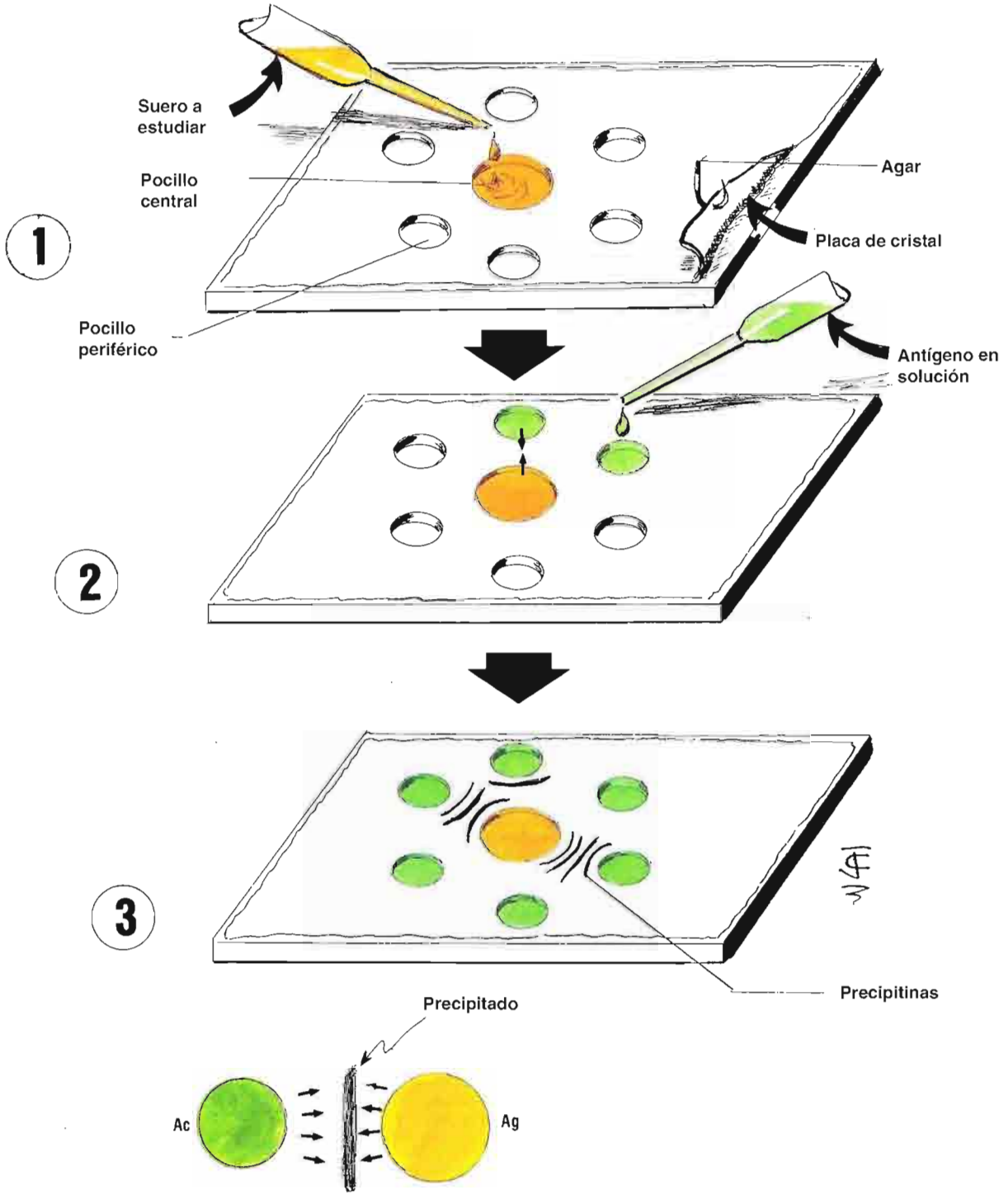



Figura 81